

Série A. N° 1059.

N° d'ordre 1901.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

André GRANDSIRE

LICENCIÉ ÈS SCIENCES NATURELLES

1^{re} THÈSE. — LE CHIMISME DES FEUILLES PRIVÉES DE CHLOROPHYLLE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le **4 JUN** 1926 devant la Commission d'examen.

MM. LÉON BERTRAND.. *Président.*

PORTIER..... } *Examineurs.*
COMBES..... }

PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1926

PREMIÈRE THÈSE

**LE CHIMISME DES FEUILLES
PRIVÉES DE CHLOROPHYLLE**



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Série A. N° 1059.

N° d'ordre 1901.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

André GRANDSIRE

LICENCIÉ ÈS SCIENCES NATURELLES

1^{re} THÈSE. — LE CHIMISME DES FEUILLES PRIVÉES DE CHLOROPHYLLE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 1926 devant la Commission d'examen.

MM. LÉON BERTRAND.. *Président.*

PORTIER..... } *Examineurs.*
COMBES..... }

PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1926

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen M. MOLLIARD, *Professeur* Physiologie végétale.

Doyen honoraire P. APPELL.

Professeurs honoraires
 { P. PUISEUX.
 V. BOUSSINESQ.
 A. JOANNIS.
 H. LE CHATELIER.
 H. LEBESGUE.
 A. FERNBACH.



	Émile PICARD	Analyse supérieure et algèbre supérieure.
	G. KÖNIGS	Mécanique physique et expérimentale.
	E. GOURSAT	Calcul différentiel et calcul intégral.
	P. JANET	Électrotechnique générale.
	F. WALLERANT	Minéralogie.
	H. ANDOYER	Astronomie.
	P. PAINLEVÉ	Mécanique analytique et mécanique céleste.
	E. HAUG	Géologie.
	Gabriel BERTRAND	Chimie biologique.
	M ^{me} P. CURIE	Physique générale et radioactivité.
	M. CAULLERY	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
	C. CHABRIÉ	Chimie appliquée.
	G. URBAIN	Chimie minérale.
	Émile BOREL	Calcul des probabilités et Physique mathém.
	L. MARCHIS	Aviation.
	Jean PERRIN	Chimie physique.
	H. ABRAHAM	Physique.
	E. CARTAN	Géométrie supérieure.
	L. LAPICQUE	Physiologie générale.
<i>Professeurs</i>	E. VESSIOT	Théorie des groupes et calcul des variations.
	A. COTTON	Physique générale.
	J. DRACH	Application de l'analyse à la géométrie.
	Charles FABRY	Physique.
	Charles PÉREZ	Zoologie.
	A. LEDUC	Physique théorique et physique céleste.
	Léon BERTRAND	Géologie appliquée et géologie régionale
	R. LESPIEAU	Théories chimiques.
	E. RABAUD	Biologie expérimentale.
	P. PORTIER	Physiologie comparée.
	É. BLAISE	Chimie organique.
	P.-A. DANGEARD	Botanique.
	C. MAURAIN	Physique du globe.
	P. MONTEL	Mécanique rationnelle.
	P. WINTREBERT	Anatomie et histologie comparées.
	O. DUBOSCQ	Biologie maritime.
	G. JULIA	Mathématiques générales.
	A. JOB	Chimie générale.
	N	Géographie physique.
	N	Chimie (Enseignement P. C. N.).
	E. HÉROUARD	Zoologie.
	Rémy PERRIER	Zoologie (Enseignement P. C. N.).
	G. SAGNAC	Physique théorique et physique céleste
	E. PÉCHARD	Chimie (Enseignement P. C. N.).
	V. AUGER	Chimie analytique.
	M. GUICHARD	Chimie minérale.
	A. GUILLET	Physique.
	C. MAUGUIN	Minéralogie.
	L. BLARINGHEM	Botanique.
	A. MICHEL-LÉVY	Pétrographie.
	A. DEREIMS	Géologie.
	R. DONGIER	Physique du globe.

Secrétaire Daniel TOMBECK.

LE CHIMISME DES FEUILLES PRIVÉES DE CHLOROPHYLLE

Par André GRANDSIRE

INTRODUCTION

L'absence de chlorophylle, qui se produit sous les influences les plus diverses, peut apparaître dès l'ouverture du bourgeon, ou bien ne se manifester qu'à un moment donné de la végétation, par disparition progressive du pigment vert. Il en résulte alors une coloration jaune blanche, parfois limitée à certaines feuilles ou à certaines régions du limbe, mais s'étendant parfois aussi à tout l'ensemble des rameaux. Ce jaunissement des feuilles, qui s'accompagne la plupart du temps d'un dépérissement très net du sujet, peut aussi, en apparence du moins, ne gêner aucunement le développement général de la plante. S'il n'a souvent rien de contagieux et n'intéresse alors que l'individu atteint, il peut, dans certains cas, se communiquer soit d'un sujet à l'autre, soit même d'une espèce à une autre. C'est dire les aspects extrêmement variés que prend ce phénomène.

Cependant, malgré la diversité de ces apparences, si l'on considère les circonstances dans lesquelles se produit le jaunissement des feuilles ou les conséquences générales qui en résultent pour la vie de la plante, il est possible de ramener les différents cas de chlorose à quelques types relativement bien déterminés. On peut de la sorte distinguer :

1^o Les plantes étiolées, privées de chlorophylle par suite de la végétation à l'obscurité ;

2^o Les Phanérogames hétérotrophes, chez qui l'absence plus

ou moins complète du pigment vert semble une conséquence de la vie parasitaire ;

3^o Les feuilles jaunes d'automne ;

4^o Les végétaux atteints de chlorose maladive ;

5^o Les plantes albinisées.

Ces divers types de chlorose ont déjà fait l'objet de nombreuses études, soit qu'on ait décrit les modifications morphologiques ou histologiques qui accompagnent cette décoloration des feuilles, soit qu'on ait voulu préciser les causes capables de provoquer la disparition du pigment vert, soit qu'on ait recherché, dans les cas particuliers de chlorose infectieuse, la manière dont se propage la maladie ou le moyen d'y porter remède.

Tout autre est le but du présent travail, visant uniquement à mettre en relief les modifications chimiques qui caractérisent, au cours de la végétation, les feuilles privées de chlorophylle. Ces modifications, quelles sont-elles ? Sont-elles radicalement différentes, suivant les différents types de chlorose ? Telle est la double question qui domine tout ce travail.

Pour que notre analyse soit plus approfondie, nous avons restreint nos recherches aux plantes albinisées, moins connues que les autres au point de vue de leur composition chimique. Aussi, dans l'exposé historique qui suit et qui résume à grands traits les connaissances actuelles sur la chimie des feuilles décolorées, les cas d'albinisme occuperont-ils la première place.

APERÇU HISTORIQUE

1. PLANTES ALBINISÉES. — Dans les cas d'albinisme, l'absence du pigment vert, bien qu'anormale, ne semble porter aucun préjudice au développement général de la plante (1). Seules, les feuilles décolorées, où les chloroleucites ont en majorité disparu (2), sont toujours plus petites et plus minces que

(1) DELACROIX, *Maladies non parasitaires des plantes cultivées*, Paris, 1916.

(2) ZIMMERMAN, *Beitrag zur Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle*, t. II, 1891, p. 81.

les autres (1). Cette décoloration se manifeste dès l'ouverture du bourgeon et n'atteint d'ordinaire qu'un nombre limité de feuilles.

D'après Morren (2) et Baur (3), c'est toujours spontanément, sans aucune raison apparente, que naissent ces types de chlorose, un rameau blanc ou panaché se développant au milieu des branches vertes.

Bien que certaines espèces albinisées (*Ptelea trifoliata aurea*, *Papaver Rhœas aurea*, par exemple) se reproduisent normalement par la graine, le retour au type vert primitif n'étant alors que l'exception (4), la plupart du temps la graine, quand elle n'est pas stérile, ne donne que des individus normaux, et l'unique moyen de propager le panachure est alors le bouturage ou la greffe (5).

On ignore encore la véritable cause de cette décoloration des feuilles ; certains toutefois attribuent cette chlorose à un virus spécial ne se formant qu'à la lumière (6).

Quant à la composition chimique des plantes albinisées, très peu d'auteurs l'ont étudiée ; le meilleur travail, et presque le seul que nous possédions sur ce sujet, est dû à Church (7). D'après les analyses de l'auteur, qui ne furent faites qu'à une seule époque de la végétation, les feuilles blanches seraient plus riches en eau que les vertes. Chez elles, la matière sèche contiendrait plus de cendres et plus d'azote soluble que la matière sèche des feuilles normales.

Cette surabondance d'azote soluble dans les organes décolorés fut retrouvée dans la suite par M. Molliard (8), qui signale également chez eux, comme Corenwinder (9), plus d'azote

(1) TIMPE, *Beitrag zur Kenntniss der Panachierung*, Göttingue, 1900.

(2) MORREN, *Bulletin de l'Académie royale de Belgique*, 2^e série, t. XIX, 1865, p. 224 ; t. XXVIII, 1869, p. 434.

(3) BAUR, *Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft*, t. XXII, 1904, p. 453 ; t. XXIV, 1906, p. 416 ; t. XXV, 1907, p. 410.

(4) BAUR, *loc. cit.*

(5) BAUR, *loc. cit.*

(6) BAUR, *loc. cit.*

(7) CHURCH, *Journal of the chemical Society of London*, t. XXXV, 1879, p. 33 ; t. XXVII, 1880, p. 1 ; t. XLIX, 1886, p. 839.

(8) M. MOLLIARD, *Revue générale de Botanique*, t. XXV, 1913, p. 353.

(9) CORENWINDER, *Études sur les feuilles des arbres pendant le cours de leur végétation*, Lille, 1874.

total. Quant aux cendres des feuilles albinisées, ce qui les caractérise nettement, c'est, à la fois, leur pauvreté en chaux et leur grande richesse en potasse ; d'après Church et Iwanoff (1), le phosphore, d'ordinaire, serait également chez elles plus abondant.

Pantanelli (2), à la suite de ses observations sur la limite de plasmolyse des cellules et sur l'abaissement du point cryoscopique des sucS végétaux, aboutit à cette conclusion que le suc cellulaire des feuilles blanches doit être plus concentré que celui des feuilles vertes. De plus, le même auteur signale chez les feuilles albinisées la présence d'oxydases et de peroxydases, de ferments protéolytiques et amylolytiques particulièrement actifs.

2. CHLOROSSES MALADIVES. — Dans les chloroses malades, contrairement à ce qui se passe dans les cas d'albinisme, l'absence de chlorophylle ne se manifeste jamais dès l'ouverture du bourgeon, mais la feuille, d'abord verte, perd ensuite son pigment à un moment quelconque de la végétation. Cette décoloration des feuilles, totale ou partielle suivant les cas, s'accompagne toujours d'un dépérissement général de la plante, pouvant aller même jusqu'à la mort du végétal.

Si les causes (excès de calcaire ou de potasse dans le sol ; défaut de fer, de soufre, de manganèse dans le milieu de culture ; toxines, bactéries, enzymes, etc...) qui se trouvent à l'origine de ces chloroses malades sont aujourd'hui assez nettement déterminées, par contre la composition chimique de ces feuilles malades reste encore peu connue.

Les quelques analyses que nous possédons, portant sur le Pin et le Châtaignier (3), sur la Vigne (4), sur l'Oranger, le Citronnier et le Pamplemoussier (5), sur l'Épinard et le

(1) IWANOFF, *Jahrbücher für Wissenschaft Botanik*, t. XXXVI, 1901, p. 355.

(2) PANTANELLI, *Malpighia*, t. XVI, 1902 ; t. XVII, 1903, p. 39 ; t. XVIII, 1904, p. 97 ; t. XIX, 1905, p. 45.

(3) FLICHE et GRANDEAU, *Annales de chimie et de physique*, 4^e série, t. XXIX, 1873, p. 383 ; 5^e série, t. II, 1874, p. 354.

(4) JOULIE, *Bulletin de la Société des Agriculteurs de France*, t. XXVII, 1888, p. 77. — GASTINE et DEGRULLY, *C. R. Ac. Sc.*, t. CXX, 1895, p. 1231.

(5) BRIGGS, JENSEN et MACLANE, *Journal of agricultural Research*, t. VI, 1916, p. 721. — JENSEN, *ibid.*, t. IX, 1917, p. 157 ; t. IX, 1917, p. 253. — MAC-

Chou (1), sur le *Coleus Blumei* (2), montrent que, dans tous ces cas de chlorose, les feuilles où manque la chlorophylle sont plus riches en eau que les vertes : plus riches aussi en cendres, à l'exception, toutefois, des feuilles de Pin et d'Oranger.

La composition des cendres provenant des feuilles du Pin, du Châtaignier et de la Vigne, chlorotiques en terrain calcaire, présente les mêmes caractéristiques : richesse en chaux, pauvreté en potasse. Dans les cendres de ces feuilles, le fer se trouve toujours présent, parfois même en plus grande abondance que dans les feuilles saines. Quant au soufre, il est au contraire moins abondant dans les feuilles chlorotiques de Vigne et de Châtaignier que dans les feuilles normales.

Tout autre est la composition des cendres chez les feuilles panachées de l'Oranger, du Citronnier et du Pamplémoussier. Ici, l'on trouve, en effet, pénurie de chaux, mais surabondance de potasse, de soufre et de phosphore. L'azote total est particulièrement abondant dans la matière sèche de ces feuilles fortement panachées. Par contre, au début de la panachure, lorsque la feuille n'est encore que légèrement atteinte, il n'y a pas chez elle plus d'azote que dans la feuille saine, bien qu'elle se fasse déjà remarquer par sa richesse en potasse et sa pauvreté en chaux.

Si l'on a pu observer dans les feuilles fortement panachées du Citronnier et de l'Oranger une surabondance d'azote total, rien de semblable n'a été constaté dans les feuilles du Chou, de l'Épinard et du *Coleus Blumei*. Tout au contraire, dans ces trois derniers cas, les feuilles malades sont moins riches en azote que les feuilles saines. *

3. FEUILLES JAUNES D'AUTOMNE. — Avant de se détacher à l'automne, la plupart des feuilles perdent leur chlorophylle. Contrairement à l'opinion généralement admise jusqu'à ces derniers temps, Combes (3) a montré que les radiations solaires n'exerçaient pas d'action directe dans cette disparition

BETH, *ibid.*, t. IX, 1917, p. 183. — KELLEY et CUMMINS, *ibid.*, t. XX, 1920, p. 161.

(1) JODIDI, MOULTON et MARKLEY.

(2) SCHERTZ, *Botanical Gazette*, t. LXXI, 1921, p. 81.

(3) R. COMBES, *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXXI, 1925, p. 129.

du pigment vert, le jaunissement se produisant aussi rapidement et avec la même intensité chez les feuilles placées à l'abri de la lumière. Sans en conclure que la cause, qui provoque dans ce cas la destruction de la chlorophylle, soit à chercher dans une réaction spéciale du milieu cellulaire, nous pouvons du moins constater que toutes les feuilles jaunes d'automne, sous le rapport de la composition chimique, présentent certains points communs.

Chez elles, le degré d'hydratation est relativement faible (1), les cendres toujours abondantes; souvent même, c'est à cette époque que les feuilles présentent leur teneur maxima en substances minérales (2). La pénurie de phosphore et de potasse, l'abondance de chaux (3) caractérisent alors nettement les cendres.

Si la matière sèche des feuilles jaunes d'automne est toujours pauvre en azote total (4), on constate par contre très souvent, comme l'ont signalé M. Molliard (5) et André (6), une augmentation de l'azote organique soluble. Ce dernier caractère toutefois ne semble pas se manifester chez les plantes annuelles (7).

Toujours moins riches en amidon (8) que les feuilles vertes, les feuilles jaunes d'automne sont souvent aussi moins riches en sucres solubles et en glucosides (9); ces derniers cependant

(1) FLICHE et GRANDEAU, *Annales de chimie et de physique*, 5^e série, t. VIII, 1876, p. 486.

(2) GARREAU, *Annales des Sciences naturelles, Botanique*, 4^e série, t. XIII, 1860, p. 145. — ZÖLLER, *Die Landwirth Versuchs-Stationen*, t. VI, 1864, p. 231. — RISSMÜLLER, *ibid.*, t. XVII, 1874, p. 17. — DULK, *ibid.*, t. XVIII, 1875, p. 188. — ANDRÉ, *C. R. Ac. Sc.*, t. CXLIX, 1909, p. 45.

(3) ZÖLLER, RISMÜLLER, DULK, *loc. cit.* — FRUWIRTH et ZIELSTORFF, *Die Landwirth Versuchs-Stationen*, t. LV, 1901, p. 9. — MORH, *ibid.*, t. LIX, 1904, p. 253. — ANDRÉ, *C. R. Ac. Sc.*, t. CXLIX, 1909, p. 45.

(4) RISSMÜLLER, DULK, *loc. cit.* — FLICHE et GRANDEAU, *loc. cit.* — FRUWIRTH et ZIELSTORFF, *loc. cit.* — LECLERC DU SABLON, *Revue générale de Botanique*, t. XVI, 1904, p. 341.

(5) M. MOLLIARD, *ibid.*, t. XXV, 1913, p. 353.

(6) ANDRÉ, *C. R. Ac. Sc.*, t. CXLVIII, 1909, p. 1685.

(7) FRUWIRTH et ZIELSTORFF, *loc. cit.* — ANDRÉ, *C. R. Ac. Sc.*, t. CXXXII, 1901, p. 1058.

(8) MER, *Bulletin de la Société botanique de France*, t. XXIII, 1876, p. 176. — MICHEL-DURAND, Variation des substances hydrocarbonées dans les feuilles, 1917.

(9) LECLERC DU SABLON, *Revue générale de botanique*, t. XVI, 1904, p. 341.

peuvent, dans certains cas, être aussi abondants à l'automne qu'au printemps (1).

4. PHANÉROGAMES HÉTÉROTROPHES. — Parmi les plantes phanérogames, parasites ou saprophytes, les unes, comme la Cuscuté, l'Orobanche, le *Neottia nidus avis*, sont totalement dépourvues de chlorophylle ; les autres, comme le Gui, le Mélanpyre, l'Euphrasie, en possèdent toujours plus ou moins. Chez ces dernières cependant l'assimilation chlorophyllienne reste faible et suffit à peine à compenser les pertes dues à la respiration (2).

La composition chimique de ces plantes présente un ensemble de caractères remarquablement homogène.

Comme l'ont constaté Grandeau (3), Church (4) et Zellner (5), non seulement la teneur en eau du parasite est supérieure à celle de l'hôte, mais encore sa matière sèche donne toujours plus de cendres à la calcination.

Dans les cendres, si la proportion du phosphore ne présente rien de particulier, par contre, l'extrême abondance de la potasse et la pénurie de chaux sont toujours caractéristiques. Les analyses de Grandeau, Church, Wehmer (6), Weevers (7) et Zellner sont parfaitement d'accord sur ce point.

D'après M. Mirande (8), l'azote nitrique ferait défaut dans la plupart des Phanérogames parasites. Au dire de Lutz (9), au contraire, les parasites aussi bien que les saprophytes,

— COMBES, *Association française pour l'avancement des sciences*, 1909, p. 525,
— MICHEL-DURAND, *loc. cit.*

(1) GUIGNARD, *Bulletin des Sciences pharmacologiques*, t. XIII, 1906, p. 65 et 603 ; *C. R. Ac. Sc.*, t. CXXI, 1905, p. 448. — TREUB, *Annales du Jardin botanique de Buitenzorg*, 2^e série, t. VI, 1907, p. 76.

(2) BONNIER, *Bull. scient. de la France et de la Belgique*, t. XXVIII, 1893.

(3) GRANDEAU et BOUTON, *C. R. Ac. Sc.*, t. LXXXIV, 1877, p. 129 et 500.

(4) CHURCH, *Journal of the chemical Society of London*, t. XXXV, 1879, p. 33.

(5) ZELLNER, *Monatshefte für Chemie*, t. XXXV, 1914, p. 333 ; t. XXXVI, 1914, p. 1511 ; t. XL, 1919, p. 293.

(6) WEHMER, *Landwirth Versuchs-Stationen*, 1892, p. 448.

(7) WEEVERS, *Recueil des travaux botaniques néerlandais*, t. VIII, 1911, p. 289.

(8) MIRANDE, *C. R. Ac. Sc.*, t. CXLV, 1907, p. 507.

(9) LUTZ, *Bulletin de la Société botanique de France*, t. LV, 1908, 104 ; *C. R. Ac. Sc.*, t. CLIV, 1912, p. 1247.

possédant ou non de la chlorophylle, renferment tous des nitrates dans leurs tissus : d'après ce dernier auteur, il existerait même une relation entre la présence ou l'absence de chlorophylle et la richesse en azote total et nitrique. « Lorsque la plante est chlorophyllienne, dit-il, les chiffres de l'azote nitrique sont faibles, ceux de l'azote total élevés. Lorsque la plante ne possède pas de chlorophylle, c'est le contraire qu'on observe ».

Chez les parasites dépourvus de chlorophylle, M. Molliard (1) et Zellner (2) ont fait remarquer, de plus, que les proportions d'azote soluble entrant dans la constitution de l'azote total sont toujours relativement élevées, plus élevées que dans les plantes vertes en général. Ce serait même, pour M. Molliard, cette abondance des composés azotés solubles, présents dans les parasites, qui empêcherait chez eux la formation de chlorophylle.

D'après Zellner (3), qui a poussé plus loin que les autres ses investigations, les parasites, même privés de chlorophylle, contiendraient encore plus de glucose et d'acide libre que leur hôte. Aussi, sans avoir mesuré directement la pression osmotique des contenus cellulaires, estime-t-il que l'abondance des éléments solubles dans l'eau (acides aminés, sels organiques et minéraux, glucose, acides libres, etc.), présents dans le parasite, suffit à établir entre celui-ci et son hôte l'équilibre osmotique, et cela en dépit des différences sensibles dans la teneur en eau.

Enfin, les Phanérogames parasites ou saprophytes sont généralement bien pourvus de diastases (4) et contiennent notamment, d'après M. Molliard (5), des oxydases particulièrement actives.

5. PLANTES ÉTIOLÉES. — A part de très rares exceptions (6),

(1) M. MOLLIARD, *Revue générale de botanique*, t. XXV, 1913, p. 355.

(2) ZELLNER, *Monatshefte für Chemie*, t. XL, 1919, p. 293.

(3) ZELLNER, *ibid.*, t. XXXVI, 1914, p. 1511.

(4) GUIGNARD, *C. R. Ac. Sc.*, t. CCLI, 1905, p. 637. — ZELLNER, *Monatshefte für Chemie*, t. XXXV, 1914, p. 368.

(5) M. MOLLIARD, *loc. cit.*

(6) FLAHAULT, *Bulletin de la Société botanique de France*, t. XXVI, 1879.

lorsqu'une graine germe ou qu'une plante pousse à l'abri de la lumière, tiges et feuilles restent jaunes par manque de chlorophylle. Cette absence de chlorophylle, conséquence de la végétation à l'obscurité, ne s'accompagne pas seulement de modifications morphologiques (1) et histologiques (2) affectant l'aspect extérieur de la plante et des tissus, mais encore de certaines modifications chimiques.

Les feuilles étiolées, quelles qu'elles soient, se distinguent toujours des feuilles insolées par la pauvreté de leur matière sèche en sels minéraux. Les analyses, toutes concordantes, de Godlewski (3), Weber (4), Palladine (5) et André (6) semblent bien indiquer qu'il s'agit là d'un caractère constant.

Quant à la composition des cendres, les principales différences entre feuilles vertes et feuilles étiolées portent sur la teneur en chaux, en phosphore et en potasse. D'après Weber et Palladine, les organes venus à l'obscurité contiennent toujours beaucoup plus de phosphore, un peu plus de potasse et notablement moins de chaux que les organes correspondants développés à la lumière.

Parmi les autres différences chimiques qui opposent entre elles feuilles vertes et feuilles étiolées, aucune, semble-t-il, ne peut être généralisée. C'est ainsi, par exemple, qu'à l'obscurité les feuilles pétioleées de *Vicia* (7), de *Raphanus* (8) et de *Phaseolus* (9) sont moins riches en eau qu'à la lumière, alors que, pour les feuilles sans pétiole du Blé (10), c'est l'inverse qui a lieu. De même, si les matières protéiques sont plus abon-

(1) DE CANDOLLE, *Physiologie végétale*. — SACHS, *Botanische Zeitung*, t. XXI, 1863, p. 19 ; t. XXIII, 1865, p. 117.

(2) RAUWENHOFF, *Annales des Sciences naturelles, Botanique*, 6^e série, t. V, 1878, p. 267. — TEODORESCO, *Revue générale de Botanique*, t. XI, 1899, p. 369.

(3) GODLEWSKI, *Botanische Zeitung*, 1879, p. 81.

(4) WEBER, *Landwirth Versuchs-Stationen*, t. XVIII, 1875, p. 18.

(5) PALLADINE, *Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft*, t. X, 1892, p. 179.

(6) ANDRÉ, *C. R. Ac. Sc.*, t. CXXX, 1900, p. 1198.

(7) PALLADINE, *Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft*, t. VIII, 1890, p. 364.

(8) GODLEWSKI, *loc. cit.*

(9) KARSTEN, *Landwirth Versuchs-Stationen*, t. XIII, 1871, p. 176.

(10) PALLADINE, *Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft*, t. VIII, 1890, p. 364.

dantes dans les feuilles étiolées de *Vicia* que dans les vertes, elles sont, par contre, moins abondantes dans les feuilles étiolées du Blé (1).

De même, enfin, les acides aminés, qui entrent pour un cinquième dans la matière sèche du Lupin germé à l'abri de la lumière (2), ne se trouveraient, d'après André (3), qu'à l'état de traces dans le Maïs poussé à l'obscurité.

Telles sont, en résumé, les connaissances, fort incomplètes encore, que nous possédons à l'heure actuelle sur la composition chimique des feuilles privées de chlorophylle.

Ne pouvant aborder à la fois tous les types de chlorose, nous avons borné nos recherches aux feuilles vertes et aux feuilles blanches d'espèces albinisées, cherchant à découvrir les différences d'ordre chimique qui existent entre les deux sortes de feuilles, non seulement à un moment donné de leur croissance, mais encore aux différentes périodes de la végétation, depuis l'époque où s'épanouissent les bourgeons jusqu'au moment où se flétrissent les feuilles blanches.

Les matériaux, pour la plupart, nous furent fournis par un Marronnier et un Orme, atteints tous deux d'albinisme et présentant, depuis de longues années, au milieu de rameaux parfaitement verts, plusieurs branches dont les feuilles, dès l'ouverture du bourgeon, se montraient complètement décolorées. Comparées aux feuilles vertes, les feuilles blanches étaient plus petites, plus minces et présentaient des signes très nets de dégénérescence quand les premières étaient encore en pleine végétation. Les prélèvements furent toujours faits sur le même arbre et à la même heure. Seuls les limbes furent analysés, la dernière série d'analyses correspondant à l'époque du flétrissement des feuilles jaunes.

Dans cet exposé nous suivrons la marche même de notre analyse et nous traiterons successivement :

1^o De la teneur en eau, en matières organiques et minérales ;

(1) PALLADINE, *Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft*, t. IX, 1891, p. 494.

(2) SCHULZE et UMLAUFT, *Landwirth Versuchs-Stationen*, t. XVIII, 1875, p. 1.

(3) ANDRÉ, *C. R. Ac. Sc.*, t. CXXX, 1900, p. 41 8.

- 2^o Des composés hydrocarbonés ;
- 3^o Des matières azotées ;
- 4^o Des acides libres et salifiés ;
- 5^o Des matières minérales.

C'est pour nous un devoir de témoigner ici à M. le professeur Molliard notre reconnaissance pour nous avoir donné, par son enseignement, le goût des études physiologiques et pour avoir accueilli, toujours avec bienveillance, les premiers résultats de nos recherches.

Que M. le professeur Costantin, qui a bien voulu lire notre thèse et l'accepter dans les *Annales des Sciences naturelles*, daigne recevoir tous nos remerciements.

Qu'il nous soit permis de dire notre profonde gratitude à M. l'abbé Colin, qui, après nous avoir reçu dans son laboratoire de l'Institut catholique, nous a patiemment initié aux méthodes des recherches scientifiques, se montrant toujours pour nous un guide complaisant et sûr.

Que M. Raoul Combes enfin, dont les travaux sur les feuilles à anthocyane et sur les feuilles jaunes d'automne sont aujourd'hui connus de tous, nous permette de lui exprimer ici tous nos remerciements pour avoir accepté d'examiner notre travail.

CHAPITRE PREMIER

TENEUR EN EAU, EN MATIÈRES ORGANIQUES ET EN MATIÈRES MINÉRALES

On sait le rôle prépondérant que la plupart des physiologistes font jouer à la chlorophylle non seulement dans la synthèse des composés organiques, mais parfois encore dans le transport de l'eau et des sels minéraux à l'intérieur même de la plante. Aussi, avant d'entreprendre l'étude détaillée des constituants organiques et minéraux présents dans les feuilles vertes et les feuilles blanches, aux différentes époques de la végétation, n'est-il pas sans intérêt, pour prendre une première vue d'ensemble du sujet, d'établir la richesse de ces feuilles en eau, en matières organiques et en sels minéraux.

1. **Richesse en eau.** — La teneur en eau des feuilles blanches s'est toujours montrée supérieure à celle des feuilles vertes. La différence qui existe, sous ce rapport, entre les deux sortes de feuilles, déjà sensible au début de la végétation, s'accroît davantage encore avec l'âge.

Le tableau suivant met ces faits en évidence.

Eau p. 100 du poids frais.

I. — MARRONNIER.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
17 avril.....	81,872	84,776
27 —	79,167	84,593
22 mai	76,184	83,226
19 juin	71,325	82,460

II. — ORME.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
8 mai	75,847	83,000
30 —	71,187	82,783
21 juin	64,993	80,922
28 juillet.....	62,139	77,950

2. **Matière organique et minérale.** — La matière sèche, obtenue par dessiccation des organes à l'étuve, représente évidemment la somme des composés organiques et minéraux contenus dans la prise d'essai. Si l'on veut alors déterminer la part qui revient à chacun de ces deux constituants dans la formation de cette substance sèche, il faut calciner celle-ci au moufle. Pour être simple, cette opération n'en est pas moins délicate, car, si la combustion est trop brutale, on risque ou bien de perdre certains composés minéraux volatils, ou bien, par fusion des bases alcalines, d'enrober des particules de charbon qui échapperaient ainsi à la calcination.

Opérant toujours sur des petites quantités de matière sèche, nous avons pu, sans dépasser le rouge sombre, obtenir, assez rapidement dans la plupart des cas, des cendres pulvérulentes, légèrement grisâtres, exemptes de carbone. Comme les calcinations, de plus, étaient menées parallèlement sur les feuilles vertes et blanches, les conditions expérimentales se trouvaient être les mêmes et les résultats devenaient plus strictement comparables.

Le poids de cendres ainsi obtenu représentait la teneur de la prise d'essai en matières minérales ; la différence entre le poids sec initial et le poids des cendres donnait, par ailleurs, sa richesse en matières organiques.

Nous avons toujours trouvé les feuilles blanches plus riches en cendres que les feuilles vertes.

Cette richesse des feuilles blanches en sels minéraux apparaît déjà si l'on rapporte les résultats au poids frais, mais devient beaucoup plus évidente encore si l'on calcule la teneur en cendres de la matière sèche.

Par contre, les substances organiques sont évidemment plus abondantes chez les feuilles vertes.

A. GRANDSIRE

Matières organiques p. 100 du poids frais.

I. — MARRONNIER.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
17 avril.....	17,215	13,796
27 —	19,461	13,867
22 mai	22,198	14,921
19 juin	26,759	15,405

II. — ORME.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
8 mai	22,177	15,022
30 —	26,337	14,718
21 juin	32,375	16,399
28 juillet.....	34,837	18,750

Cendres p. 100 du poids frais.

I. — MARRONNIER.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
17 avril.....	1,413	1,428
27 —	1,372	1,540
22 mai	1,618	1,853
19 juin	1,916	2,135

II. — ORME.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
8 mai	1,976	1,978
30 —	2,476	2,499
21 juin	2,625	2,679
28 juillet.....	3,024	3,300

Cendres p. 100 du poids sec.

I. — MARRONNIER.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
17 avril.....	7,676	9,478
27 —	6,642	10,042
22 mai	6,809	11,161
19 juin	6,725	12,171

II. — ORME.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
8 mai	8,210	11,547
30 —	8,660	14,746
21 juin	7,500	14,156
28 juillet.....	8,000	15,014

On voit, d'après ces analyses, que, dans un même poids de matière fraîche, les substances organiques et minérales augmentent avec l'âge, aussi bien chez les feuilles blanches que chez les feuilles vertes. Mais, tandis que, chez les premières, l'augmentation des sels minéraux est beaucoup plus rapide que celle des composés organiques, chez les secondes l'accumulation des matières minérales et organiques suit une marche sensiblement parallèle. Si l'on établit, dès lors, le rapport pondéral des cendres à la matière organique, on constate qu'il augmente sans désenparer dans les feuilles blanches et varie à peine ou même diminue dans les feuilles vertes (1).

Valeurs du rapport $\frac{\text{minéral}}{\text{organique}}$.

I. — MARRONNIER.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
17 avril.....	0,082	0,103
27 —	0,070	0,111
2 mai	0,072	0,124
19 juin	0,071	0,138

II. — ORME.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
8 mai	0,089	0,131
30 —	0,094	0,169
21 juin	0,081	0,163
28 juillet.....	0,086	0,176

D'autres analyses portant sur les feuilles de diverses espèces panachées (*Acer negundo*, *Acer pseudoplatanus*, *Cornus*, *Hemerocallis*) nous ont donné des résultats parfaitement comparables : l'eau est toujours plus abondante et la teneur en cendres de la matière sèche plus élevée chez les feuilles blanches. Toutefois, la richesse en cendres de la matière fraîche s'est montrée, dans certains cas, légèrement inférieure chez les feuilles privées de chlorophylle.

(1) H. COLIN et A. GRANDSIRE, *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXXI, 1925, p. 133.

	P. 100 DU POIDS FRAIS.			P. 100 DU POIDS SEC.	MINÉRAL ORGANIQUE.
	Eau.	Mat. organique.	Cendres.	Cendres.	
<i>Acer negundo.</i>					
Feuilles vertes.....	74,500	23,307	2,193	8,600	0,093
— blanches	84,300	13,785	1,915	12,208	0,138
<i>Acer pseudoplatanus.</i>					
Feuilles vertes.....	67,700	30,200	2,100	6,530	0,069
— blanches	81,500	16,500	2,000	10,810	0,121
<i>Cornus.</i>					
Feuilles vertes.....	68,700	28,640	2,660	8,545	0,092
— blanches	77,000	20,310	2,690	11,759	0,132
<i>Hemerocallis.</i>					
Feuilles vertes.....	83,550	11,850	1,600	9,730	0,107
— blanches	90,000	8,610	1,390	13,860	0,161

En résumé, les feuilles blanches des espèces albinisées, quelle que soit l'époque de la végétation considérée, diffèrent sensiblement des feuilles vertes prélevées sur le même pied. Particulièrement riches en eau et en sels minéraux, elles sont toujours pauvres en matières organiques. Ces différences, sensibles dès l'ouverture du bourgeon, ne font que s'accroître avec le temps.

Cette richesse en eau et en sels minéraux, qui distingue si nettement les feuilles blanches des feuilles vertes chez les espèces albinisées, se retrouve d'ailleurs dans la plupart des feuilles privées de chlorophylle.

Si l'on excepte certaines feuilles étiolées, celles de *Vicia*, *Raphanus*, *Phaseolus* par exemple, pauvres en eau d'après Palladine, dans tous les autres cas de chlorose la teneur en eau est supérieure à la normale. Les chiffres donnés par Church et par Zellner, relatifs aux plantes hétérotrophes, ceux de Kelley et Cummins, de Schertz et de Curtel se rapportant aux chloroses malades, ceux de Palladine sur les feuilles étiolées du Blé sont très nets. Quant aux feuilles jaunes d'automne, bien que leur degré d'hydratation soit relativement faible, si on les compare aux feuilles vertes prélevées à la même date et sur le même individu, il est fréquent, comme nous avons pu le constater nous-mêmes, de les trouver plus riches en eau.

Un autre caractère, constant semble-t-il, des feuilles privées de chlorophylle est la richesse en matières minérales. Exception faite des feuilles étiolées, toujours pauvres en cendres, comme l'ont montré les analyses de Godlewski, Weber, Palladine et André, toutes les autres variétés de feuilles décolorées : feuilles jaunes d'automne (Grandeau, Zöller, Rissmüller et Dulk), feuilles atteintes de chlorose malade (Fliche, Degrully, Schertz), phanérogames hétérotrophes (Bouton, Church, Zellner), se font en effet remarquer, comme les feuilles albinisées, par l'abondance des cendres contenues dans la matière sèche.

CHAPITRE II

LES COMPOSÉS HYDROCARBONÉS

Parmi les composés hydrocarbonés, qui forment avec les matières protéiques et leurs dérivés la presque totalité des substances organiques existant dans les feuilles, les uns, tels que le glucose, le lévulose, le saccharose, sont considérés d'ordinaire comme le résultat immédiat de l'assimilation chlorophyllienne ; d'autres, comme l'amidon et les celluloses, regardés comme des produits de condensation des précédents, peuvent toutefois se former sans l'intervention directe de la chlorophylle ; d'autres enfin, glucosides, matières pectiques, mucilages, gommes, etc., dont la genèse est plus ou moins obscure, sont considérés, suivant les auteurs, soit comme des matières de réserve, soit, au contraire, comme des déchets cellulaires.

Si l'on trouve fréquemment dans les feuilles vertes normales tout cet ensemble de composés hydrocarbonés, il arrive parfois qu'un des termes de la série : amidon, glucosides, gomme, par exemple, fasse totalement défaut ou que de nouveaux sucres : raffinose, maltose, stachyose, viennent s'ajouter encore aux précédents.

Dès lors, deux questions se posent ici :

1^o Les composés hydrocarbonés, que nous trouverons dans les feuilles vertes, se retrouveront-ils, sans exception, dans les feuilles blanches ?

2^o Dans quelles proportions les rencontrera-t-on chez les deux sortes de feuilles ?

I. — FEUILLES DE MARRONNIER.

1. **Analyse qualitative.** — Il y a longtemps que la complexité chimique du Marronnier a exercé la sagacité des chercheurs, et nombreux sont aujourd'hui les travaux parus sur ce sujet. Mais la plupart ayant porté soit sur l'écorce, soit sur la graine (1), la composition chimique des feuilles reste assez peu connue.

Goris (2), dans ses recherches histologiques sur la localisation des glucosides, signale dans les feuilles du Marronnier la présence d'esculine, ou plutôt d'esculitannate d'esculine, qu'il décele par la réaction de Sonnenschein, en traitant les coupes par l'acide azotique et aussitôt après par l'ammoniaque.

Au dire de Béhal (3), Reutter (4) et Czapeck (5), il y aurait encore, dans ces feuilles, de la fraxine en assez grande abondance. Là se bornent les connaissances actuelles.

Nos recherches ont porté à la fois sur les feuilles vertes normales et sur les feuilles blanches.

A. FEUILLES VERTES NORMALES. — Les feuilles récoltées en juin-juillet ont été épuisées d'abord par l'alcool fort, puis par l'eau.

a. *Extrait alcoolique.* — Après distillation sous pression réduite de l'extrait alcoolique, le résidu de la distillation fut repris par l'eau tiède et déféqué au sous-acétate de plomb. Le précipité plombique ayant été mis à part pour être analysé ultérieurement, la liqueur fut débarrassée de l'excès de plomb par le carbonate de soude.

z. *Étude de la liqueur déféquée.* — Sur la liqueur ainsi préparée, on a dosé, suivant la méthode de G. Bertrand, le réduc-

(1) Cf. FRÉMY, *Annales de Chimie et de Physique*, 2^e série, t. LVIII, 1835, p. 101. — ROCHLEDER et SCHWARZ, *Annalen der Chemie und Pharmacie*, t. LXXXVII, 1853, p. 186 ; t. LXXXVIII, 1853, p. 356. — BOSSHARD, *Thèse*, 1916. — MASSON, *Bulletin des Sciences pharmacologiques*, 1918, p. 65. — G. BERTRAND et M^{lle} Y. DJORITCH, *C. R. Ac. Sc.*, 1924, p. 1233.

(2) GORIS, *Localisation et rôle des alcaloïdes et des glucosides chez les végétaux*.

(3) BÉHAL, *Traité de chimie organique*, t. II, p. 886.

(4) REUTTER, *Traité de matière médicale et de chimie végétale*, Paris, 1923.

(5) CZAPECK, *Biochimie der Pflanzen*, t. III, p. 476, 478, 534.

teur avant hydrolyse (R_1), le réducteur après action de la sucrase (R_2) et le réducteur après action de l'acide chlorhydrique (R_3). Chaque dosage était accompagné d'une lecture au polarimètre. Les résultats furent les suivants :

Feuilles vertes du 10 juillet.

100 centimètres cubes de liqueur correspondent à 100 grammes de feuilles fraîches.

[$l = 2$. ; $T = 18^\circ$]

Avant hydrolyse $\left\{ \begin{array}{l} \alpha_1 = + 0^\circ 56' \\ R_1 = 0,100 \end{array} \right.$

Après action de la sucrase $\left\{ \begin{array}{l} \alpha_2 = + 0^\circ 26' \\ R_2 = 0,365 \end{array} \right.$

Après action de l'acide chlorhydrique à 3 p. 100, pendant une heure. $\left\{ \begin{array}{l} \alpha_3 = + 0^\circ 6' \\ R_3 = 0,580 \end{array} \right.$

D'autres analyses faites aux mêmes époques donnèrent des résultats parfaitement comparables.

De ces premières données, trois conclusions se dégagent :

1^o Puisque l'acide pousse l'hydrolyse plus loin que la sucrase, c'est qu'il existe, à côté du réducteur, soit un mélange de saccharose et d'un autre polysaccharide, soit uniquement un polysaccharide complexe ;

2^o L'indice de réduction enzymolitique, voisin de 500, se montrant nettement inférieur à l'indice théorique du saccharose, il faut en conclure que le polysaccharide existant seul ou à côté du saccharose est, partiellement du moins, hydrolysé par la sucrase ;

3^o Enfin, si l'on calcule le pouvoir rotatoire global du mélange des sucres avant inversion, on le trouve égal à $+ 80^\circ$. Pouvoir rotatoire supérieur, par conséquent, même à celui que donnerait une solution de saccharose pur, sans mélange de réducteur. Et ceci nous conduit à admettre que le polysaccharide présent dans la liqueur possède un pouvoir rotatoire dextrogyre élevé.

Deux observations complètent ces premières données :

1^o Si l'on fait agir l'émulsine, après la sucrase, on constate que cette diastase pousse l'hydrolyse aussi loin que l'acide. A titre d'exemple, voici les chiffres de deux expériences :

	RÉDUCTEUR APRÈS ACTION :		
	de la sucrase.	de l'acide.	de l'émulsine.
Première expérience	46	63	62
Deuxième expérience	19	28	28

2^o Par oxydation nitrique, on obtient en abondance des cristaux d'acide mucique, se présentant sous la forme typique de prismes courts, intégralement solubles dans l'ammoniaque.

Dès maintenant, nous pouvons donc affirmer qu'il existe dans les feuilles vertes du Marronnier, récoltées en juin-juillet, à côté du réducteur, un polysaccharide dextrogyre, différent du saccharose, hydrolysé successivement par la sucrase et l'émulsine et devant posséder dans sa molécule du galactose.

Reste à savoir quel est ce polysaccharide et s'il est accompagné ou non de saccharose.

Pour résoudre cette double question, nous avons essayé d'isoler les sucres. Dans ce but, un kilo de feuilles vertes, récoltées fin octobre, furent épuisées par l'alcool fort. Après distillation sous pression réduite de la liqueur d'épuisement, le résidu fut repris par l'eau tiède et la défécation faite au sous-acétate de plomb. Une fois l'excès de plomb éliminé par le carbonate de soude, la liqueur, parfaitement limpide, légèrement teintée de jaune, fut saturée par une solution de baryte bouillante. Le précipité de sucrate de baryum, obtenu par addition d'alcool fort, fut repris par l'eau et décomposé par l'acide sulfurique dilué. Après élimination du sulfate de baryum, la liqueur exactement neutralisée fut évaporée jusqu'à consistance sirupeuse. Comme ce sirop, repris par l'alcool bouillant, ne donnait, même après trois semaines, aucune apparence de cristaux, l'alcool fut chassé par distillation et le sirop abandonné à lui-même. Peu de jours après, on vit alors apparaître des cristaux qui présentaient les caractères optiques du saccharose. Mis en solution dans l'eau, ils étaient de plus totalement hydrolysés par l'invertine le pouvoir rotatoire devenant celui du sucre interverti.

Si la présence du saccharose dans les feuilles vertes du Marronnier se trouvait ainsi mise hors de doute, l'identification

du polysaccharide à base de galactose restait encore à faire. Aussi, l'année suivante, avons-nous recommencé l'expérience sur une quantité plus considérable de feuilles, récoltées cette fois au début de juillet, époque à laquelle, d'après nos recherches, ce polysaccharide semble être le plus abondant.

L'extraction fut faite suivant la technique précédente, et le sucrate de baryum, précipité par l'alcool, fut également décomposé par l'acide sulfurique dilué. Après élimination du sulfate de baryum et neutralisation exacte de l'excès d'acide, le dosage des sucres présents dans la liqueur nous donna les résultats suivants :

(V = 100 centimètres cubes : l = 2 : T = 17°.1)

Avant hydrolyse	$\left\{ \begin{array}{l} \alpha_1 = + 1^{\circ} 52' \\ R_1 = 0 \end{array} \right.$
Après action de la sucrase	$\left\{ \begin{array}{l} \alpha_2 = + 0^{\circ} 56' \\ R_2 = 0,500 \end{array} \right.$
Après action de l'acide	$\left\{ \begin{array}{l} \alpha_3 = + 0^{\circ} 22' \\ R_3 = 0,860 \end{array} \right.$

Nous sommes donc en présence d'un mélange de sucres non réducteurs, dont l'un est du saccharose. Si nous supposons que l'autre sucre est du stachyose, dont les propriétés s'accordent parfaitement avec nos résultats antérieurs, nous pouvons calculer la déviation que donnerait au polarimètre un mélange de saccharose et de stachyose dans les proportions indiquées par les dosages précédents. D'après ces dosages, la liqueur contenant 0^{gr},361 de saccharose et 0^{gr},436 de stachyose, la déviation de ce mélange doit être égale à $\frac{66,5 \times 0,361 \times 2}{100} + \frac{148,9 \times 0,436 \times 2}{100}$, soit + 1°48'. La concordance entre cette déviation calculée 1°48' et la déviation lue au polarimètre 1°52' semble suffisante pour permettre de conclure ici à la présence du *stachyose* (1).

(1) Deux autres analyses, indépendantes l'une de l'autre, nous ont donné des résultats parfaitement comparables à ceux-ci. Notons de plus que, dans l'expérience détaillée ici, si l'on suppose un mélange de saccharose et de raffinose, la déviation devrait être de 1°26', chiffre bien différent, comme on le voit, de celui que donne la lecture du polarimètre.

3. *Étude du précipité plombique.* — Le précipité plombique, précédemment recueilli, fut mis en suspension dans l'eau et décomposé par l'acide sulfhydrique. Après filtration pour se débarrasser du sulfure de plomb, la liqueur, de couleur jaune rouge, fut divisée en deux parties égales, dont l'une a été neutralisée par la soude, l'autre par la baryte (1). Traitées ensuite de la même façon, les deux liqueurs donnèrent des résultats identiques.

Par évaporation à basse température, on obtint tout d'abord un sirop rouge foncé, qui fut ensuite épuisé à chaud, successivement par l'éther acétique et l'alcool éthylique à 95°. Le résidu, insoluble dans ces solvants, se dissolvait intégralement dans l'eau.

1° L'éther acétique, chassé par distillation dans le vide, laissa un résidu jaune clair qui fut mis en solution dans l'eau. La liqueur ainsi obtenue, nettement lévogyre, réduisait un peu le Fehling avant hydrolyse. Elle donnait avec les sels de fer très dilués une coloration verte intense ; avec la potasse, la soude, l'ammoniaque, la baryte, une coloration jaune ; avec l'acide nitrique pur, une coloration rose-framboise qui virait peu à peu au jaune.

Cette liqueur, traitée pendant une heure au bain-marie bouillant par l'acide chlorhydrique à 5 p. 100, devenait rouge foncé et, par refroidissement, donnait un précipité rouge-brique.

Débarrassée de ce précipité, la liqueur, devenue dextrogyre, réduisait le Fehling trois fois plus qu'auparavant et donnait avec l'acétate de phénylhydrazine une *arabinosazone* nettement cristallisée.

Quant au précipité recueilli sur filtre, il était parfaitement soluble dans l'alcool fort. Cette solution alcoolique, d'un beau rouge vif, donnait avec les sels ferriques une coloration verte et avec la potasse, la soude, l'ammoniaque, une coloration jaune. Avec l'acide nitrique, il se produisait tout d'abord un abondant dégagement de vapeurs rutilantes, et la liqueur peu à peu se colorait en vert.

2° L'alcool éthylique entraîna, comme l'éther acétique,

(1) La neutralisation par la baryte provoqua un léger précipité.

une substance jaune clair qui, après élimination de l'alcool, fut mise, comme précédemment, en solution dans l'eau. La liqueur ainsi obtenue présentait les mêmes réactions que la précédente.

3° Le résidu, insoluble dans l'éther acétique et l'alcool éthylique, mis en solution dans l'eau, donnait par évaporation une substance rouge brillante qui se séparait en écailles. Cette substance était très facilement soluble dans l'eau. L'addition d'acide chlorhydrique dans ces solutions bouillantes faisait apparaître presque instantanément un abondant précipité rouge.

Débarrassée de ce précipité, la liqueur chlorhydrique réduisait très nettement le Fehling, donnait avec l' α -naphthol une coloration violette, avec l'orcine une coloration rouge et avec l'acétate de phénylhydrazine à chaud des cristaux très nets de *galactosazone*.

Quant au précipité rouge, il était très soluble dans l'alcool fort et dans le carbonate de soude dilué (1). Ses solutions alcooliques donnaient encore avec les sels de fer une coloration verte, mais, avec la potasse ou la soude, il n'y avait plus cette fois de virage au jaune.

b. *Extrait aqueux*. — Les feuilles, épuisées par l'alcool, furent ensuite traitées par l'eau.

Après quarante-huit heures de contact à 35°, l'eau avait entraîné une substance visqueuse qui précipitait par l'alcool, l'acétate de plomb et la baryte. Le précipité alcoolique, remis en solution dans l'eau, coagulait par la pectase de Carotte. La solution aqueuse, hydrolysée par l'acide chlorhydrique à 5 p. 100 pendant une heure, donnait avec l'orcine la coloration bleue des pentoses et avec l'acétate de phénylhydrazine des cristaux d'*arabinosazone*.

Nous sommes donc là en présence d'une matière pectique à base d'arabinose.

Enfin, reprises par l'eau bouillante, les feuilles cédaient à

(1) Ces précipités rouges, insolubles dans l'eau, solubles dans l'alcool fort et dans les solutions aqueuses alcalines, ressemblent, par leurs caractères de solubilité, au chromogène obtenu par Masson à partir des téguments du Marron (Cf. G. MASSON, *Bulletin des Sciences pharmacologiques*, 1918, p. 65).

ce solvant de l'amidon, caractérisé par sa réaction à l'iode.

Cet aperçu, bien que sommaire, montre l'extrême variété des hydrates de carbone présents dans les feuilles vertes du Marronnier, puisque, à côté du glucose, du lévulose et du saccharose, nous trouvons, outre le stachyose et l'amidon, du galactose et de l'arabinose inclus dans différentes combinaisons organiques.

Cette variété d'hydrates de carbone, allons-nous la retrouver dans les feuilles blanches ?

B. FEUILLES BLANCHES. — Comme les feuilles vertes, les feuilles blanches furent récoltées en juin-juillet. La marche de l'analyse ayant été calquée en tous points sur la précédente, nous ne donnerons ici que les résultats obtenus.

a. *Extrait alcoolique.* — α . *Étude de la liqueur déféquée.* — A côté du réducteur, il n'y a ici que du saccharose, car :

1^o Le pouvoir réducteur est le même après action de l'acide ou de la sucrase ;

2^o L'indice de réduction enzymolitique est celui du saccharose ;

3^o L'oxydation nitrique ne donne jamais d'acide mucique.

Voici par exemple les chiffres d'une expérience :

(V = 100 centimètres cubes ; $l = 2$; T = 18°.)

Avant hydrolyse	$\left\{ \begin{array}{l} \alpha_1 = -0^{\circ} 36' \\ R_1 = 0,180 \end{array} \right.$
Après action de la sucrase	$\left\{ \begin{array}{l} \alpha_2 = -0^{\circ} 50' \\ R_2 = 0,300 \end{array} \right.$
Après action de l'acide	$\left\{ \begin{array}{l} \alpha_3 = 0^{\circ} 50' \\ R_3 = 0,295 \end{array} \right.$

3. *Étude du précipité plombique.* — Le précipité plombique, décomposé par H²S, donne après filtration une liqueur jaune clair dont une partie fut neutralisée par la soude, l'autre par la baryte (1). Ces deux liqueurs, traitées ensuite de même façon, donnèrent des résultats identiques.

Par évaporation, à basse température, on obtint un sirop

(1) La neutralisation par la baryte provoqua un léger précipité.

jaune clair qui fut épuisé à chaud, comme dans le cas des feuilles vertes, d'abord par l'éther acétique, puis par l'alcool à 95°. Le résidu, insoluble dans ces solvants, se dissolvait intégralement dans l'eau.

L'éther acétique et l'alcool, tous deux colorés en jaune, laissèrent après distillation une substance jaune, soluble dans l'eau, présentant les mêmes réactions que celles des feuilles vertes. Traitée par l'acide dilué, elle donnait naissance à de l'*arabinose* et à un pigment, jaune il est vrai, mais offrant les mêmes propriétés chimiques que celui des feuilles vertes.

Quant au résidu, insoluble dans l'éther acétique et l'alcool, mis en solution dans l'eau, il donnait, sous l'influence de l'acide chlorhydrique à chaud, d'une part du *galactose* et d'autre part un pigment soluble dans l'alcool et ne différant encore de celui des feuilles vertes que par sa couleur jaune.

b. *Extrait aqueux*. — Comme dans le cas des feuilles vertes, l'eau entraîne également ici une matière pectique à base d'*arabinose*, mais jamais nous n'avons pu déceler d'amidon.

En résumé, nous retrouvons dans les feuilles blanches, à l'exception toutefois du stachyose et de l'amidon, les mêmes hydrates de carbone que nous avons trouvés dans les feuilles vertes.

Reste à savoir maintenant dans quelles proportions ces composés hydrocarbonés se rencontrent chez les deux sortes de feuilles. C'est ce que va nous dire l'analyse quantitative.

2. **Analyse quantitative.** — Les renseignements que nous a fournis l'étude précédente sur la nature des composés hydrocarbonés contenus dans les feuilles du Marronnier nous permettent désormais d'établir une technique pour le dosage de ces substances au cours de la végétation.

A. **TECHNIQUE.** — a. *Extraction par l'alcool*. — Les feuilles fraîches, sitôt récoltées, sont pesées, coupées en morceaux et projetées dans l'alcool bouillant. Après quinze minutes d'ébullition, on décante l'alcool, on broie les feuilles au mortier et l'on refait deux extractions nouvelles. Les liqueurs d'extraction réunies sont distillées sous pression réduite et le résidu

repris par l'eau tiède. On élimine la chlorophylle par filtration et on défèque au sous-acétate de plomb.

Le précipité plombique est recueilli pour être analysé à part. Quant à la liqueur défequée, après élimination du plomb en excès par le carbonate de soude, elle se trouve prête pour le dosage des sucres. Ces dosages furent toujours faits d'après la méthode de G. Bertrand. Nous avons déterminé le réducteur avant hydrolyse (R_1), après action de la sucrase (R_2) et après action de l'acide (R_3).

R_3-R_2 représente les sucres provenant du manninotriose ; pour avoir la richesse en stachyose, il suffit d'augmenter ce chiffre du tiers.

R_2-R_1 correspond au sucre interverti et au lévulose du stachyose ; il suffit donc de retrancher ici ce lévulose pour avoir la teneur en sucre interverti.

R_1 donne directement le réducteur libre.

Le précipité plombique précédemment recueilli est tout d'abord décomposé par l'acide sulfurique. A ce moment, on dose le réducteur, qui a pu se fixer par adsorption ; puis on hydrolyse par l'acide à 5 p. 100 pendant deux heures, et l'on dose à nouveau les sucres. La différence entre ces deux dosages, représentant les hydrates de carbone (dans le cas présent arabinose et galactose) libérés par hydrolyse, renseigne sur la richesse des feuilles en glucosides.

b. *Extraction par l'eau à 35°*. — Mises au contact de l'eau à 35° pendant trois jours, les feuilles abandonnent la plus grande partie des matières pectiques solubles dans l'eau. La liqueur visqueuse est alors recueillie, hydrolysée par l'acide chlorhydrique à 5 p. 100 pendant quatre heures, puis neutralisée. La richesse en sucre se trouve proportionnelle à la richesse de la liqueur en matières pectiques.

c. *Extraction par l'eau bouillante*. — Les feuilles sont ensuite reprises par l'eau bouillante pendant vingt-cinq minutes environ. L'amidon et ce qui reste encore de matières pectiques passent en solution. Après refroidissement, on ajoute à la masse 0gr.500 de taka-diastrase, et l'on abandonne à l'étuve vers 35°. Cinq ou six jours après, l'amidon étant presque intégralement passé à l'état de glucose, un dosage de sucre nous

renseigne sur la richesse des feuilles en amidon. Pour évaluer ensuite la quantité de matières pectiques entraînées par l'eau bouillante, on fait agir l'acide chlorhydrique à 5 p. 100 pendant quatre heures. Les sucres, présents alors, résultent à la fois de l'hydrolyse de l'amidon et des matières pectiques ; il suffit donc de retrancher du total ainsi trouvé la quantité des sucres provenant de l'amidon pour avoir celle qui est due aux matières pectiques de la liqueur.

B. RÉSULTATS OBTENUS. — Les dosages nous ont montré que les feuilles blanches sont nettement différentes des feuilles vertes par les proportions des hydrates de carbone qu'elles contiennent. Si l'on excepte en effet les glucosides (1), sensiblement aussi abondants chez les feuilles blanches que chez les feuilles vertes, tous les autres composés hydrocarbonés (réducteur, saccharose, stachyose, amidon, matières pectiques), quand ils sont présents chez les feuilles blanches, s'y trouvent toujours en quantité notablement inférieure. Bien plus, au cours de la végétation, alors que les feuilles vertes s'enrichissent graduellement en réducteur, en stachyose, en amidon et en matières pectiques, ces mêmes principes, chez les feuilles blanches, ne semblent subir aucune variation. Seuls, les glucosides suivent une marche à peu près parallèle chez les deux sortes de feuilles : avec l'âge, on les voit de part et d'autre diminuer.

Les chiffres suivants représentent la richesse en sucres des feuilles fraîches du Marronnier aux différentes époques de la végétation :

(1) H. COLIN et A. GRANDSIRE, *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXIX, 1924, p. 288.

Hydrates de carbone des feuilles du Marronnier.

P. 100 DU POIDS FRAIS.

1^o Feuilles vertes.

	Réducteur.	Saccha- rose.	Sta- chyose.	Sucre total.	Glucosides.	Amidon.	Mat. pectiques.
7 avril ...	0,396	0,288	»	0,684	0,315	Traces.	0,050
17 — ...	0,480	0,348	»	0,828	0,386	Traces.	0,054
22 mai. ...	0,552	0,348	0,168	1,068	0,388	1,320	0,310
19 juin ...	0,972	0,300	0,296	1,568	0,281	1,100	0,433

2^o Feuilles blanches.

7 avril ...	0,350	0,080	»	0,430	0,385	»	0,036
17 — ...	0,400	0,160	»	0,560	0,320	»	0,040
22 mai. ...	0,256	0,162	»	0,418	0,300	»	0,125
19 juin ...	0,360	0,168	»	0,528	0,228	»	0,085

II. — FEUILLES D'ORME.

1. **Analyse qualitative.** — Le processus d'analyse ayant été le même que pour le Marronnier, il suffira de donner ici les conclusions de nos recherches.

Les feuilles vertes, en fait de sucres, ne contiennent, à côté du réducteur, que du saccharose; chez elles, on trouve encore au moins un glucoside, précipitable par l'acétate basique de plomb et donnant avec la potasse ou la soude une coloration jaune, une substance mucilagineuse, analogue, par ses produits d'hydrolyse, à celle qu'a signalée M. Molliard (1), et enfin de l'amidon.

Les feuilles blanches ne diffèrent que par l'absence d'amidon.

2. **Analyse quantitative.** — Les dosages, effectués par la méthode précédente, donnèrent des résultats parfaitement comparables à ceux qui se rapportent au Marronnier. Ici encore les feuilles blanches se signalent par leur pauvreté en sucres, et l'amidon fait constamment défaut. Quant aux glucosides, ils semblent exister en égale proportion chez les deux sortes de

(1) M. MOLLIARD, *Revue générale botanique*, t. XXV, 1913.

feuilles. Contrairement à ce qui se passe dans le Marronnier, on voit le saccharose augmenter très nettement au cours de la végétation dans les feuilles blanches de l'Orme.

Hydrates de carbone des feuilles d'Orme.

P. 100 DU POIDS FRAIS.

1^o Feuilles vertes.

	Réducteur.	Saccharose.	Sucre total.	Glucosides.	Amidon.
8 mai.....	1,092	1,042	2,134	0,210	Traces
30 —	1,048	2,028	3,076	0,348	0,504
21 juin	1,260	3,780	5,040	0,378	0,684

2^o Feuilles blanches.

	Réducteur.	Saccharose.	Sucre total.	Glucosides.	Amidon.
8 mai.....	0,490	0,200	0,690	0,160	»
30 —	0,452	0,464	0,916	0,232	»
21 juin	0,516	0,684	1,200	0,298	»

Dans ces feuilles d'Orme, où il n'existe en fait de sucres solubles que du réducteur et du saccharose, il est facile, par le calcul, connaissant la déviation initiale du mélange des sucres, d'établir le pouvoir rotatoire du réducteur libre et d'en déduire les proportions de glucose et de lévulose en présence (1). On constate alors, comme l'indiquent les valeurs du rapport $\frac{\text{glucose}}{\text{levulose}}$ mentionnées ci-dessous, que, dans les feuilles blanches, le glucose est relativement plus abondant que dans les feuilles vertes.

Valeurs du rapport $\frac{\text{glucose}}{\text{levulose}}$.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
8 mai	0,323	0,553
30 —	0,429	0,786
21 juin	0,553	1,199

(1) Lorsqu'il s'agit d'extraits de feuilles, les méthodes chimiques pour la détermination du rapport $\frac{G}{L}$, reposant sur l'oxydation par le brome ou l'iode en milieu légèrement alcalin, sont rendues impossibles par suite de la présence dans ces extraits, même rigoureusement déféqués, de principes autres que les sucres et capables de fixer en abondance l'iode et même le brome (Cf. H. COLIN et O. LIÉVIN, *Bulletin de la Société chimique de France*, t. XXIV, 1918, p. 403).

Or, on sait que les feuilles privées de chlorophylle respirent moins que les vertes ; il en résulte donc que la richesse en glucose se trouve être inversement proportionnelle à l'intensité respiratoire. Et cela s'accorde bien avec l'hypothèse de Brown et Morris (1) adoptée par M. Molliard (2), Lindet (3) et H. Colin (4), d'après laquelle le glucose serait brûlé dans la respiration de préférence au lévulose.

Cette différence profonde, qui existe au point de vue de la teneur en hydrates de carbone, entre feuilles vertes et feuilles blanches, aussi bien chez l'Orme que chez le Marronnier, se retrouve identique dans les feuilles d'autres espèces panachées.

Voici, par exemple, la richesse en sucres des feuilles d'*Hemerocallis*, d'*Acer*, de *Cornus* et de *Spiræa*.

Hydrates de carbone p. 100 du poids frais.

I. — *HEMEROCALLIS.*

1^o Feuilles vertes.

	Réducteur.	Saccharose.	Sucre total.	Amidon.
2 mai	1,856	1,904	3,760	»
6 juin.....	2,120	2,180	4,300	»
1 ^{er} juillet	1,168	1,192	2,360	»

2^o Feuilles blanches.

2 mai	0,951	0,065	1,016	»
6 juin.....	0,860	0,500	1,360	»
1 ^{er} juillet	1,125	0,720	1,845	»

II. — *ACER NEGUNDO.*

1^o Feuilles vertes.

	Réducteur.	Saccharose.	Sucre total.	Amidon.
25 mai	0,444	0,740	1,184	1,441
19 juin.....	0,240	0,500	0,740	0,975

2^o Feuilles blanches.

25 mai	0,111	0,030	0,141	»
19 juin.....	0,100	0,120	0,220	»

(1) BROWN et MORRIS, *Journal of Chem. Sc.*, 1893, p. 604.

(2) M. MOLLIARD, *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXVII, 1918, p. 1043.

(3) LINDET, *Ann. agron.*, t. XXVI, 1910, p. 103.

(4) H. COLIN, *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXVIII, 1919, p. 697.

III. — CORNUS.

1^o Feuilles vertes.

	Réducteur.	Saccharose.	Sucre total.	Amidon.
2 mai	0,480	0,990	1,470	»
19 juin.....	0,380	1,180	1,560	»

2^o Feuilles blanches.

2 mai.....	0,260	0,225	0,485	»
19 juin.....	0,216	0,312	0,528	»

IV. — SPIRÆA.

1^o Feuilles vertes.

	Réducteur.	Saccharose.	Sucre total.	Glucosides.	Amidon.
2 mai	0,800	0,517	1,317	0,406	0,953
19 juin.....	0,710	0,400	1,110	0,400	0,520

2^o Feuilles blanches.

2 mai	0,200	0,110	0,310	0,390	»
19 juin.....	0,108	0,065	0,173	0,325	»

On voit donc que les feuilles blanches, qui ne le cèdent en rien aux feuilles vertes par la variété des composés hydrocarbonés qu'elles renferment, l'amidon seul y faisant régulièrement défaut, diffèrent cependant toujours des feuilles à chlorophylle par les faibles proportions de sucres qu'elles contiennent. De plus, chez elles, le réducteur l'emporte sur le saccharose, alors que, dans les vertes, c'est généralement l'inverse qui a lieu. Quant aux glucosides, ils semblent se trouver d'ordinaire en quantité égale chez les deux sortes de feuilles.

CHAPITRE III

LES MATIÈRES AZOTÉES

On considère généralement la feuille comme l'organe où se produit la transformation de l'azote minéral en azote organique, et généralement aussi on attribue au pigment chlorophyllien un rôle, tout au moins indirect, dans cette transformation. Dès lors, on comprend l'intérêt que présente la comparaison entre feuilles vertes et feuilles blanches au point de vue de la teneur en azote.

Mais il ne suffit pas ici d'évaluer la richesse respective des deux sortes de feuilles en azote total; il faut encore, autant que faire se peut, déterminer dans quelles proportions se rencontrent chez elles les différentes substances azotées. Ces substances sont extrêmement variées, car, outre les protéines à poids moléculaire élevé, constituant le terme ultime de la synthèse opérée par le vivant, elles comprennent toute une série de corps plus simples, tels que protéoses, peptones, amines, amides, etc., représentant soit les produits d'hydrolyse des protéines elles-mêmes, soit les matériaux d'une synthèse encore inachevée, soit des substances de déchet; sans compter les sels minéraux de l'azote.

Pour que l'analyse soit complète, il faudrait donc doser séparément l'azote provenant de chacune de ces sources; malheureusement, dans l'état actuel de nos connaissances, la chose semble pratiquement irréalisable, et nous avons dû nous contenter de déterminer, aux différentes époques de la végétation, chez les feuilles vertes et les feuilles blanches :

- 1° L'azote total, comprenant l'azote organique et minéral;
- 2° L'azote insoluble, provenant des protéines coagulables par la chaleur en milieu acétique;
- 3° L'azote soluble en milieu acétique, représentant par con-

séquent les protéoses, les peptones, les amines, les amides et l'azote minéral ;

4° L'azote minéral joint à celui des amides et des amines.

1. **Azote total.** — La méthode de dosage employée fut celle de Kjeldhal, modifiée cependant pour atteindre à la fois l'azote organique et minéral.

Bien que la méthode de Kjeldhal ne donne pas toujours des résultats absolument exacts avec certaines matières organiques azotées, telles que les bases pyridiques ou quinoléiques par exemple (1), sa précision, suffisante lorsqu'il s'agit de déterminer globalement l'azote organique des substances végétales, et surtout sa rapidité l'ont fait adopter, de préférence à la méthode de Dumas, par l'ensemble des physiologistes. Mais on n'atteint jamais par là que l'azote organique ; aussi, pour doser en même temps l'azote minéral, doit-on modifier la méthode ordinaire de Kjeldhal. Différentes modifications ont été proposées par Asboth (2), Jodlbauer (3), Forster (4), etc... A l'essai, sur des poids connus d'azote organique et d'azote minéral, la modification de Jodlbauer nous ayant donné d'excellents résultats, c'est elle que nous avons adoptée.

La technique comprend deux opérations distinctes :

1° Transformation de l'azote minéral en azote organique par l'action combinée de l'acide phénolsulfonique et de l'hydrogène naissant. Les nitrates, en présence de l'acide phénolsulfonique, donnent naissance à des dérivés nitrés du phénol, qui sont ensuite réduits par l'hydrogène et passent à l'état d'amidophénols ;

2° Décomposition de l'ensemble des composés organiques azotés par l'acide sulfurique bouillant, en présence du mercure et du sulfate de cuivre comme adjuvants.

MODE OPÉRATOIRE. — Sur les feuilles desséchées et réduites en poudre, contenues dans un ballon à long col, on verse 5 centimètres cubes d'acide phénolsulfonique et 30 centimètres

(1) W. MESTREZAT et Mlle M.-P. JANET, *Bulletin de la Société de chimie biologique*, t. III, 1921, p. 105.

(2) A. V. ASBOTH, *Chem. Centralbl.*, 1886, p. 101.

(3) M. JODLBAUER, *ibid.*, 1886, p. 439.

(4) O. FORSTER, *Zeitschr. f. anal. Chem.*, t. XXVII, 1889, p. 422.

cubes d'acide sulfurique pur. On laisse digérer à froid pendant deux heures, puis on ajoute, par petites portions, un peu de poudre de zinc. Après cinq ou six heures de contact, on additionne le tout de 10 centimètres cubes d'acide sulfurique pur, d'un peu de mercure et d'un fragment de sulfate de cuivre. On chauffe alors, doucement tout d'abord, et ensuite à l'ébullition. Quand la masse n'offre plus qu'une coloration jaune pâle, on retire du feu, on laisse refroidir et l'on ajoute de l'eau jusqu'à dissolution des cristaux qui se sont formés. Après addition de poudre de zinc, de lessive de soude et d'hyposulfite, on distille l'ammoniaque que l'on recueille dans de l'acide sulfurique décimormal. La quantité d'acide neutralisé donne la quantité d'ammoniaque dégagée, d'où l'on peut déduire, par une simple règle de trois, la teneur en azote de la prise d'essai.

RÉSULTATS OBTENUS. — Les dosages exécutés de la sorte, à partir des feuilles vertes et blanches de Marronnier et d'Orme, donnèrent des résultats en tous points comparables d'une plante à l'autre.

Rapportée au poids sec, la teneur en azote total, qui diminue régulièrement au cours de la végétation, aussi bien chez les feuilles vertes que chez les feuilles blanches, est cependant toujours plus élevée chez ces dernières. Il n'en va plus de même si l'on calcule la richesse en azote d'un même poids frais de feuilles ; ce sont alors les feuilles blanches qui se montrent les plus pauvres en cet élément. Chez elles, l'azote total diminue encore régulièrement avec l'âge, tandis que, chez les feuilles vertes, au contraire, il semble que le pourcentage d'azote total se relève vers la fin.

Teneur en azote total des feuilles de Marronnier et d'Orme.

I. — FEUILLES DE MARRONNIER.

	<i>Azote total.</i>			
	P. 100 du poids sec.		P. 100 du poids frais.	
	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
7 avril.....	5,858	5,434	1,240	1,040
17 —	4,732	5,264	0,881	0,801
27 —	4,122	4,504	0,858	0,693
22 mai	2,998	3,487	0,713	0,584
19 juin.....	2,890	3,168	0,828	0,555

II. — FEUILLES D'ORME.

Azote total.

	P. 100 du poids sec.		P. 100 du poids frais.	
	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
8 mai	4,788	6,104	1,156	1,037
30 —	3,616	4,675	1,041	0,804
21 juin.....	3,000	3,636	1,050	0,693
28 juillet	2,978	2,990	1,127	0,659

2. **Azote insoluble et azote soluble.** — Pour séparer l'azote insoluble de l'azote soluble, les feuilles sèches pulvérisées furent traitées pendant dix minutes à l'ébullition par de l'eau distillée, légèrement acétique. Après refroidissement, le tout étant jeté sur un filtre, on lave deux fois à l'eau froide et l'on dessèche de nouveau la poudre ainsi épuisée. Celle-ci ne contenant plus que les protéines coagulables, un dosage par la méthode ordinaire de Kjeldhal nous renseigne sur l'azote protéique insoluble. Pour connaître ensuite la teneur en azote soluble, il suffit de retrancher le résultat obtenu ici du chiffre représentant la richesse en azote total.

RÉSULTATS OBTENUS. — *L'azote insoluble, rapporté au poids sec ou au poids frais, est toujours plus abondant dans les feuilles vertes que dans les feuilles blanches. Celles-ci, par contre, quel que soit le stade du développement considéré, se montrent constamment plus riches en azote soluble.*

Au cours de la végétation, la quantité d'azote soit insoluble, soit soluble, contenue dans un même poids de matière sèche ou de matière fraîche diminue régulièrement chez les feuilles blanches. Dans les feuilles vertes, il n'en va pas tout à fait de même, car les dernières analyses de juin et juillet semblent indiquer à cette époque une légère augmentation des deux formes d'azote, du moins par rapport au poids frais.

Azote insoluble et soluble des feuilles de Marronnier et d'Orme.

I. — MARRONNIER.

A. — *Feuilles vertes.*

	P. 100 du poids sec.		P. 100 du poids frais.	
	Azote insoluble.	Azote soluble.	Azote insoluble.	Azote soluble.
7 avril.....	4,771	1,087	1,010	0,230
17 —	3,958	0,774	0,737	0,144
27 —	3,477	0,645	0,724	0,134
22 mai	2,613	0,385	0,622	0,091
19 juin.....	2,413	0,477	0,692	0,136

B. — *Feuilles blanches.*

7 avril.....	4,196	1,238	0,803	0,237
17 —	3,854	1,410	0,587	0,214
27 —	3,178	1,326	0,489	0,204
22 mai	2,305	1,182	0,386	0,198
19 juin.....	2,064	1,104	0,362	0,193

II. — ORME.

A. — *Feuilles vertes.*

	P. 100 du poids sec.		P. 100 du poids frais.	
	Azote insoluble.	Azote soluble.	Azote insoluble.	Azote soluble.
8 mai	4,087	0,701	0,987	0,169
30 —	3,113	0,503	0,897	0,144
21 juin	2,603	0,397	0,912	0,138
28 juillet	2,614	0,364	0,990	0,137

B. — *Feuilles blanches.*

8 mai	3,901	2,203	0,663	0,374
30 —	2,936	1,739	0,505	0,299
21 juin.....	2,129	1,507	0,406	0,287
28 juillet	1,680	1,510	0,371	0,288

Si l'on établit, d'après ces données, les proportions d'azote soluble contenues dans 100 parties d'azote total, on remarque, comme l'avait déjà constaté M. Molliard (1), que, chez les feuilles blanches, l'azote soluble entre pour une plus large part

(1) M. MOLLIARD, *Rev. gén. bot.*, t. XXV, 1913, p. 353.

dans la constitution de l'azote total que chez les feuilles vertes. De plus, il apparaît nettement que, *chez les feuilles blanches, l'azote total ne cesse de s'enrichir, d'un bout à l'autre de la saison, en azote soluble, alors que dans les feuilles vertes c'est exactement l'inverse qui a lieu.*

Azote soluble p. 100 d'azote total.

I. — MARRONNIER.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
7 avril.....	18,5	22,7
17 —	16,3	26,7
27 —	15,6	29,4
22 mai	12,8	33,8
19 juin	16,5	34,8

II. — ORME.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
8 mai	14,6	36,0
30 —	13,9	37,1
21 juin	13,2	41,4
28 juillet.....	12,2	43,8

3. Azote minéral joint à l'azote des amides et des amines. —

Dans le procédé Salle (1) établi pour le dosage des nitrates et des nitrites, la solution aqueuse du sel est traitée par le sulfate ferreux, en présence de poudre de zinc et en milieu rendu fortement alcalin par addition de soude. L'azote des nitrates et des nitrites, passant dans ces conditions à l'état d'ammoniaque, est entraîné par la vapeur d'eau et recueilli dans l'acide sulfurique décimormal.

Si l'on traite de cette façon une liqueur contenant non seulement des nitrates et des nitrites, mais encore des amines et des amides, il est permis de penser que ces dernières formes d'azote passeront elles aussi à l'état d'ammoniaque et que la quantité d'acide sulfurique neutralisée correspondra, approximativement du moins, à l'azote des nitrates, nitrites, amines et amides.

MODE OPÉRATOIRE. — Pour séparer l'azote insoluble de l'a-

(1) DENIGÈS, *Précis de chimie analytique*, p. 742.

zote soluble, la poudre de feuilles sèches, ainsi que nous l'avons dit plus haut, fut traitée par l'eau distillée bouillante, légèrement acétique ; dans ces conditions, l'eau entraîne évidemment, en même temps que les protéoses et les peptones, les acides aminés, les amides et tout l'azote minéral.

Cette liqueur, recueillie dans un ballon, fut donc additionnée, suivant les indications données par Denigès, de poudre de zinc, de sulfate ferreux et de lessive de soude. Après avoir adapté le ballon au réfrigérant, on porte à l'ébullition et l'on reçoit les vapeurs ammoniacales entraînées par l'eau dans de l'acide sulfurique décinormal. La quantité d'acide neutralisé permet alors de calculer l'ammoniaque dégagée et d'en déduire la quantité d'azote présent dans la prise d'essai.

RÉSULTATS OBTENUS. — L'azote ainsi libéré fut toujours beaucoup plus abondant à partir des feuilles blanches. Il en faut donc conclure que ces dernières sont toujours plus riches que les vertes en composés solubles azotés à poids moléculaire faible.

Comme l'indiquent les chiffres suivants, se rapportant à 100 grammes de matière sèche, la différence entre les deux sortes de feuilles est considérable.

I. — MARRONNIER.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
17 avril.....	0,108	0,287
27 —	0,117	0,234
22 mai	0,100	0,285
19 juin	0,074	0,330

II. — ORME.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
8 mai	0,118	0,400
30 —	0,110	0,368
21 juin	0,106	0,344
28 juillet.....	0,094	0,300

Et si l'on calcule les proportions de cet azote contenues

dans 100 parties d'azote total, on constate comme l'indique le tableau suivant :

1^o Que cette forme d'azote, chez les feuilles blanches, entre toujours pour une plus large part dans la constitution de l'azote total que chez les feuilles vertes ;

2^o Que la proportion de cet azote augmente sans cesse au cours de la végétation chez les feuilles albinisées, alors qu'elle demeure sensiblement constante dans les feuilles à chlorophylle.

I. — MARRONNIER.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
17 avril.....	2,2	5,4
27 —	2,5	5,2
22 mai	3,3	8,1
19 juin	2,5	10,4

II. — ORME.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
8 mai	2,4	6,5
30 —	3,0	7,8
21 juin	3,5	9,4
28 juillet.....	3,1	10,0

Ainsi l'opposition entre feuilles vertes et feuilles blanches, déjà mise en évidence par l'étude des composés hydrocarbonés, apparaît encore nettement si l'on considère les substances azotées.

Les feuilles blanches ont en effet toujours moins d'azote insoluble, mais, par contre, plus d'azote soluble et plus aussi de composés azotés à petites molécules.

Si l'on constate chez elles, comme chez les feuilles vertes, une diminution de l'azote sous toutes ses formes, au cours de la végétation, il est à remarquer cependant que l'azote total contenu dans les feuilles blanches s'enrichit, sans discontinuer, non seulement en azote soluble, mais encore en composés azotés à petites molécules, tandis que, chez les feuilles vertes, du moins dans l'espace de temps considéré, c'est l'inverse qui a lieu.

CHAPITRE IV

ACIDES LIBRES ET ACIDES SALIFIÉS

Les acides organiques, qui résultent pour la plus grosse part d'une oxydation incomplète des sucres et des graisses, existent dans les plantes, soit à l'état libre, soit à l'état de sels acides ou neutres, les fonctions acides donnant au suc végétal sa réaction spécifique. Si donc la détermination des acides libres nous fait connaître directement le degré d'acidité des milieux cellulaires, la richesse totale d'un organe en acides libres et salifiés nous renseigne, indirectement, sur l'intensité des phénomènes d'oxydation, dont il est le siège. Double indication qu'il est bon de posséder.

Déjà, en 1893, P. Viala (1) avait remarqué que le degré d'acidité des feuilles de vigne chlorotiques était toujours inférieur à celui des feuilles saines, et, dix ans plus tard, Astruc (2), sur les feuilles blanches des espèces panachées, avait fait la même constatation. Tout au contraire, d'après M. Molliard (3), les galles dépourvues de chlorophylle sont plus riches en acides libres que les feuilles qui les portent. Mais, sur la teneur de ces organes en sels organiques, nous ne possédons aucune donnée.

Les déterminations que nous avons faites, à partir des feuilles blanches et des feuilles vertes d'espèces panachées, ont porté, d'une part, sur l'acidité libre et, d'autre part, sur les fonctions acides salifiées.

1. **Acidité libre.** — Pour ces déterminations, il importe

(1) P. VIALA, *Les maladies de la Vigne*, Paris, 1893, p. 430.

(2) ASTRUC, *Annales des sciences naturelles, Botanique*, 8^e série, t. XVII, 1903, p. 1.

(3) M. MOLLIARD, *Rev. gén. Bot.*, t. XXV, 1913, p. 353.

d'opérer sur le matériel frais, aussitôt récolté, de façon à éviter les erreurs qui proviendraient soit d'une augmentation de l'acidité due aux phénomènes d'oxydation se poursuivant après la récolte, soit au contraire d'une diminution de cette acidité toujours possible au cours de la dessiccation.

La technique adoptée fut celle employée par Astruc et M. Molliard. Un gramme de feuilles fraîches, soigneusement broyées au mortier, sont introduites avec 100 centimètres cubes d'eau distillée dans une fiole en verre de Bohême. Après avoir porté le tout au bain-marie vers 60° pendant vingt minutes, on filtre rapidement au Büchner et sur la liqueur filtrée on dose l'acidité par la soude à $\frac{N}{50}$ en présence de phtaléine. Toute la difficulté provient ici de la coloration primitive de la liqueur, qui ne permet pas de saisir avec netteté le virage ; aussi, pour que les résultats soient strictement comparables, les dosages furent-ils toujours exécutés simultanément sur les feuilles vertes et les feuilles jaunes, de façon à pouvoir amener le virage au même point.

Les chiffres que nous avons obtenus confirment les résultats déjà publiés par Astruc et montrent que, pour un même poids de matière fraîche, *les feuilles blanches sont moins riches que les vertes en acides libres.*

Voici, par exemple, pour le Marronnier, l'Érable et le Cornouiller, exprimée en centimètres cubes de NaOH à $\frac{N}{50}$, l'acidité de 1 gramme de feuilles fraîches.

**Acides libres contenus dans 1 gramme de feuilles fraîches exprimés
en centimètres cubes de soude à $\frac{N}{50}$.**

I. — MARRONNIER.

<i>Juin.</i>		<i>Juillet.</i>	
Feuilles vertes.	Feuilles blanches.	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
3,5	3,0	3,4	2,8
3,6	3,0	3,3	2,7

II. — ÉRABLE.		III. — CORNOUILLER.	
Feuilles vertes	Feuilles blanches.	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
21,5	13,3	10,1	6,6
20,2	13,6	10,0	6,8

Et si l'on se rappelle que, pour un même poids frais, les feuilles blanches sont toujours plus riches en eau que les vertes, il apparaît clairement que, chez elles, l'acidité du suc cellulaire est très inférieure à la normale.

2. **Acides salifiés.** — Lorsqu'on calcine au moufle la matière sèche des feuilles, les composés organiques sont brûlés, et il ne reste comme résidu que les cendres, constituées par des sels minéraux. Durant cette calcination, les acides organiques libres disparaissent sans laisser de trace, puisque les éléments qui les constituent : carbone, hydrogène, oxygène, s'éliminent intégralement à l'état de gaz carbonique et d'eau. Il n'en va pas de même pour les sels organiques, dont le métal reste toujours dans le résidu minéral, où on le retrouve à l'état d'oxyde : K^2O , Na^2O , MgO , CaO , en combinaison avec l'acide carbonique et l'acide phosphorique.

On comprend, dès lors, que, si l'on évalue, au moyen d'un acide fort, tel que l'acide sulfurique, l'alcalinité des cendres, on détermine du même coup le taux des acides organiques salifiés. Il est évident toutefois que ce résultat n'est qu'approché, car il existe dans la matière sèche certaines substances où figure la magnésie, comme la chlorophylle, par exemple; d'autres où figure la chaux, comme la phytine, qui n'ont rien à voir avec les sels d'acides organiques et qui, cependant, abandonnent à la calcination leur métal. Mais, à défaut de méthode plus précise, on est contraint de s'en tenir à cette approximation.

Pratiquement, c'est donc en dosant l'alcalinité des cendres que nous dosons les sels organiques.

On pourrait évidemment se contenter d'évaluer ici l'alcalinité totale, comprenant à la fois potasse, soude, chaux, magnésie, mais on peut aussi chercher à déterminer séparément,

d'une part, la richesse en bases solubles et, d'autre part, la richesse en bases insolubles.

A. ALCALINITÉ TOTALE. — Pour l'évaluer, un poids donné de cendres est additionné d'un excès d'acide sulfurique décinormal ; puis on chauffe légèrement quelques minutes pour activer la réaction de neutralisation. Après refroidissement, on ajoute deux gouttes d'hélianthine qui colorent la liqueur en rouge. Il suffit alors, par la soude, de revenir à la neutralité pour connaître l'excès d'acide sulfurique versé et en déduire la quantité d'acide correspondant aux bases de la prise d'essai.

Les résultats sont très nets : *toujours les feuilles blanches se montrent inférieures aux feuilles vertes pour l'alcalinité totale*. De plus, si l'ensemble des bases augmente régulièrement pendant le cours de la végétation chez les deux sortes de feuilles, ce sont les vertes qui, de beaucoup, accusent la plus forte augmentation.

Il est facile de s'en assurer par les chiffres qui suivent se rapportant aux feuilles de Marronnier et d'Orme.

Alcalinité des cendres (en SO^1H^2 p. 100 de cendres).

I. — MARRONNIER.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
17 avril	59	48
27 —	68	51
22 mai	78	55
19 juin	80	58

II — ORME.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
8 mai	66	56
30 —	80	65
21 juin	84	68
28 juillet	86	66

B. BASES SOLUBLES ET INSOLUBLES. — Pour déterminer les premières, on lave soigneusement les cendres à l'eau bouillante, employant, pour 0^{gr}.200 de cendres, 300 centimètres cubes d'eau environ. Puis par l'acide sulfurique décinormal, on dose, en présence d'hélianthine, l'alcalinité du filtrat :

alcalinité qui correspond évidemment aux bases solubles dans l'eau.

La différence entre le résultat ainsi obtenu et le chiffre représentant l'alcalinité totale donne par ailleurs la teneur en bases insolubles.

RÉSULTATS. — Dès l'ouverture du bourgeon, *ce sont déjà les cendres de feuilles blanches qui se montrent les plus riches en bases solubles*. A mesure que la végétation avance, la proportion de ces bases augmente nettement chez les feuilles albini-sées, alors qu'elle diminue chez les feuilles vertes.

C'est exactement l'inverse qui a lieu pour les bases insolubles : celles-ci, toujours plus abondantes dans les cendres des feuilles normales, où elles s'accumulent rapidement avec l'âge, n'existent jamais qu'en assez faibles proportions dans les cendres de feuilles blanches.

Bases solubles et insolubles (en SO^4H^2 p. 100 de cendres).

I. — MARRONNIER.

	<i>Bases solubles.</i>		<i>Bases insolubles.</i>	
	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
17 avril	30	34	29	14
27 —	30	37	38	14
22 mai.....	26	42	52	13
19 juin	24	39	56	19

II. — ORME.

	<i>Bases solubles.</i>		<i>Bases insolubles.</i>	
	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
8 mai.....	23	31	43	25
30 —	20	33	69	32
21 juin	20	38	64	34
28 juillet.....	8	36	78	30

Ces résultats, obtenus à partir des cendres, peuvent être facilement rapportés à la matière fraîche des feuilles. On constate alors :

1^o Que les feuilles vertes, en dépit de leur faible teneur en cendres, sont encore celles qui présentent la plus forte alca-

linité totale, celles qui sont, par conséquent, pour un même poids frais, les plus riches en acides organiques salifiés ;

2^o Que les feuilles blanches, plus riches en cendres que les vertes, sont par le fait même plus riches qu'elles en alcalinité soluble. Ce qui revient à dire que les sels organiques solubles dominent chez elles.

L'opposition entre feuilles vertes et feuilles blanches se poursuit donc encore ici, puisque les feuilles à chlorophylle sont à la fois les plus riches en acides libres et en acides salifiés. Cela, du reste, ne doit pas étonner, car, s'il est vrai que les acides organiques proviennent principalement de l'oxydation des sucres et constituent comme un stade intermédiaire entre les hydrates de carbone et le gaz carbonique, il n'est pas surprenant de voir les feuilles vertes, qui sont plus riches en sucres que les feuilles blanches et qui respirent plus qu'elles, se montrer également plus riches en acides organiques. Ces acides organiques, pour une grosse part, passent, il est vrai, à l'état de sels aussi bien chez les feuilles blanches que chez les feuilles vertes ; mais alors qu'ils se fixent chez ces dernières à l'état de sels de bases insolubles, c'est sous la forme de sels de bases solubles que nous les trouvons surtout chez les feuilles blanches.

CHAPITRE V

DES MATIÈRES MINÉRALES

I. — COMPOSITION DES CENDRES.

Par suite des modifications qui se produisent au cours de la calcination, il est certain que l'analyse des cendres végétales ne peut donner aucune indication sur la nature des combinaisons organo-minérales de la matière vivante, ni même renseigner exactement sur la forme des composés minéraux tels qu'ils existent dans la plante. Cette analyse, toutefois, faisant connaître la proportion des divers éléments qui entrent dans la constitution du végétal, fournit aux physiologistes des données de première importance. Car, s'il est vrai que le rôle exact joué par la plupart de ces éléments reste, aujourd'hui encore, plus ou moins hypothétique, on sait du moins que le développement des plantes se trouve lié à la composition des cendres et que toute perturbation dans la vie végétale se traduit par une modification dans le pourcentage des éléments minéraux. Parmi ces éléments, les uns sont simplement utiles, les autres indispensables. Ces derniers, qui sont le potassium, le magnésium, le calcium, le phosphore, le soufre et le fer, ont fait seuls l'objet de nos recherches.

Dans quelles proportions ces éléments, tenus pour indispensables, se trouvent-ils dans les cendres de feuilles vertes et de feuilles blanches aux différentes époques de la végétation ?

Telle est la question que nous avons voulu résoudre.

1. Potassium, magnésium, calcium. — Leur dosage dans les cendres de feuilles vertes et de feuilles blanches présente un intérêt spécial, car, outre le rôle que l'on attribue générale-

ment à ces bases aussi bien dans la synthèse que dans la migration des hydrates de carbone et des matières albuminoïdes, on sait l'influence exercée par la chaux (1) et la potasse (2) dans certains cas de chlorose.

A. TECHNIQUE. — Comme les silicates, souvent abondants dans les feuilles, sont d'ordinaire une cause d'erreur pour les dosages qui nous occupent, nous les avons toujours éliminés au préalable.

Pour cela, les cendres étaient traitées par l'acide chlorhydrique au demi. Par évaporation lente au bain-marie, les silicates, sous l'action de l'acide, se décomposent, donnant de la silice hydratée qui se transforme par dessiccation à 100° en silice anhydre insoluble dans l'eau acidulée. Il suffit alors de reprendre la masse par l'eau tiède légèrement chlorhydrique pour entraîner les sels de potassium, magnésium, calcium, sans toucher à la silice.

a. *Dosage du potassium.* — Il existe deux procédés classiques pour le dosage de ce métal : l'un reposant sur la formation de chloroplatinate, l'autre sur celle de perchlorate. C'est ce dernier procédé que nous avons employé.

Le principe de la méthode consiste à transformer les sels de potasse en perchlorate, insoluble dans l'alcool fort. Toutefois, comme les sulfates sont également insolubles dans l'alcool, il faut au préalable s'en débarrasser.

Mode opératoire. — Les cendres, privées de silicates, sont reprises par l'eau chlorhydrique, portées à l'ébullition puis additionnées de chlorure de baryum pour précipiter les sulfates. Après filtration du sulfate de baryum, on ajoute à la liqueur une fois et demie environ son volume d'acide perchlorique. On évapore ensuite doucement, tout en agitant jusqu'à ce que l'acide chlorhydrique soit totalement éliminé et que les vapeurs denses d'acide perchlorique commencent à se dégager. Après refroidissement, on traite le résidu sirupeux par 20 ou 25 cen-

(1) Cf. M. TORD, *Progrès agricole et viticole*, 1887, p. 223. — P. VIALA, *Les maladies de la vigne*, Masson, 1893. — HOUDAILLE et SÉMICHON, *Revue de viticulture*, t. I, 1894, p. 405. — J.-M. GUILLON, *ibid.*, t. XIX, 1903, p. 469. — MAZÉ, *C. R. Ac. Sc.*, t. CLV, 1912, p. 435 ; t. CLVII, 1913, p. 495.

(2) Cf. MAZÉ, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1911. — MAIWALD, *Angewandte Botanik*, t. V, 1923, p. 33.

timètres cubes d'alcool à 97° contenant 0,2 p. 100 d'acide perchlorique. Le perchlorate de potasse précipite bientôt à l'état cristallin.

On décante l'alcool sur un creuset de Gooch. Le précipité remis en solution dans l'eau est de nouveau traité par l'acide perchlorique à chaud. On évapore à feu doux et on reprécipite par l'alcool fort. Le précipité cristallin est alors entraîné sur le creuset de Gooch, rapidement lavé à l'alcool, séché à 130° et pesé.

b. *Dosage du calcium*. — Le calcium fut dosé en le précipitant par l'acide oxalique.

La présence de fer et de magnésie dans les cendres végétales, à côté du calcium, oblige à certaines précautions, car, dans les conditions normales où se forme l'oxalate, le fer, soit à l'état d'hydrate ou de phosphate, la magnésie à l'état d'oxalate risquent de précipiter en même temps que la chaux. Il faut donc s'arranger pour éliminer le fer et maintenir l'oxalate de magnésie en solution.

Mode opératoire. — Après transformation des silicates en silice anhydre, les cendres sont reprises par l'eau acidulée. On filtre et la liqueur limpide est additionnée d'ammoniaque jusqu'à réaction alcaline : il se forme un abondant précipité de phosphate de fer et de phosphate de chaux. Par addition d'acide acétique, le phosphate de chaux seul se trouvant remis en solution, il suffit de filtrer pour éliminer le fer. Dans la liqueur filtrée où se trouvent en abondance des sels ammoniacaux (chlorure et acétate d'ammonium), on ajoute alors un excès d'acide oxalique ; l'oxalate de calcium précipite. On fait bouillir dix minutes environ pour que le précipité se rassemble en gros flocons, et l'on filtre à chaud.

Dans ces conditions, l'oxalate de magnésie, beaucoup plus soluble à chaud qu'à froid, surtout en présence de sels ammoniacaux, passe dans le filtrat, et l'oxalate de calcium reste seul sur le filtre. Ce dernier est soigneusement lavé à l'eau bouillante, jusqu'à ce que les eaux de lavage ne précipitent plus par le chlorure de calcium, puis, entraîné dans une capsule de porcelaine et décomposé par l'acide chlorhydrique dilué. Il suffit alors de doser par le permanganate, en présence

d'acide sulfurique, l'acide oxalique provenant de l'oxalate pour en déduire la quantité de chaux.

c. *Dosage du magnésium*. — Lorsqu'on se trouve en présence d'un sel pur de magnésie, il est facile de doser le magnésium en le précipitant à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien; mais, lorsque ce métal se trouve accompagné de fer et de calcium, comme dans les cendres végétales, le dosage devient plus difficile, puisqu'en milieu ammoniacal les sels de fer et de chaux précipitent en même temps que le phosphate ammoniaco-magnésien peuvent entraîner des erreurs appréciables.

Il faut donc ou bien commencer par éliminer le fer et le calcium, ou bien s'arranger pour que ces deux métaux demeurent en solution, même en présence d'ammoniaque.

α. *Dosage après élimination du fer et du calcium*. — Les cendres, débarrassées des silicates, sont reprises par l'eau acidulée. Après filtration, la liqueur est additionnée d'ammoniaque jusqu'à réaction alcaline. Les phosphates de fer, de chaux et de magnésie précipitent. Par addition d'acide acétique, les phosphates de chaux et de magnésie se trouvant remis en solution, il suffit de filtrer pour éliminer le fer. Dans la liqueur filtrée, exempte de fer et portée à l'ébullition, on précipite la chaux par l'acide oxalique. On filtre bouillant. L'oxalate de magnésie passe dans la liqueur, qui se trouve prête pour le dosage du magnésium.

Suivant les indications de Schmitz (1), le phosphate ammoniaco-magnésien fut précipité à chaud.

A la liqueur débarrassée du fer et du calcium, on ajoute de l'acide chlorhydrique, puis du phosphate de soude. On porte à l'ébullition et l'on verse goutte à goutte dans la solution encore chaude de l'ammoniaque à 10 p. 100 jusqu'à odeur nette-ment ammoniacale. Par refroidissement, il se forme de gros cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien que l'on jette sur un filtre et qu'on lave à l'eau ammoniacale. Après dessiccation à l'étuve, on calcine au moufle pour transformer le phosphate en pyrophosphate que l'on pèse et d'où l'on déduit la teneur en magnésium.

(1) B. SCHMITZ, *Zeitschr. f. anal. Chem.*, 1906, p. 512.

β. *Dosage en maintenant en solution le fer et la chaux.* — La solution chlorhydrique des cendres, exempte de silicates, est additionnée d'acide citrique, de chlorure d'ammonium à 10 p. 100 et de phosphate de soude. Puis on verse goutte à goutte de l'ammoniaque jusqu'à réaction alcaline. Le précipité de phosphate ammoniaco-magnésien ne tarde pas à se former. On ajoute alors encore un peu d'ammoniaque et on laisse reposer vingt-quatre heures. Après quoi on jette le précipité sur un filtre, on lave à l'eau ammoniacale, on dessèche et on calcine comme ci-dessus.

Les deux méthodes nous ont donné des résultats sensiblement comparables.

B. *RÉSULTATS OBTENUS.* — La différence la plus remarquable entre feuilles vertes et feuilles blanches porte sur la teneur en potasse et en chaux (1).

Les données numériques qui suivent permettent de s'en convaincre.

Chaux, magnésie, potasse p. 100 de cendres.

I. — MARRONNIER.

	Feuilles vertes.			Feuilles blanches.		
	CaO.	MgO.	K ² O.	CaO.	MgO.	K ² O.
17 avril	15,57	5,76	17,86	6,45	5,52	31,58
27 —	17,78	6,34	18,48	7,55	5,40	34,65
22 mai	24,94	5,89	14,52	7,59	5,13	37,25
19 juin	29,88	5,44	13,44	9,47	3,55	34,81

II. — ORME.

	Feuilles vertes.			Feuilles blanches.		
	CaO.	MgO.	K ² O.	CaO.	MgO.	K ² O.
8 mai	22,25	5,84	11,76	14,59	4,58	20,43
30 —	30,80	5,56	8,04	17,50	4,05	24,32
21 juin	37,33	6,14	5,24	18,84	4,08	26,15
28 juillet	37,52	6,67	4,12	15,40	3,85	34,80

Ainsi, très pauvres en chaux, les feuilles blanches se révèlent par contre riches en potasse; chez elles, la proportion de cet

(1) H. COLIN et A. GRANDSIRE, *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXXI, 1925, p. 133.

élément augmente même avec l'âge, alors que la teneur en chaux demeure sensiblement constante.

Il en va tout autrement chez les feuilles vertes, où l'on voit la potasse diminuer nettement au cours de la végétation et la chaux au contraire augmenter.

Quant à la magnésie, on la trouve, peu après l'ouverture des bourgeons, en égales proportions dans les cendres de feuilles vertes et de feuilles blanches ; à mesure que la végétation avance, le pourcentage de cet élément, qui reste à peu près constant chez les feuilles normales, baisse graduellement dans les feuilles privées de chlorophylle.

Feuilles vertes et feuilles blanches ne diffèrent donc pas seulement par la teneur de leurs cendres en potasse, chaux et magnésie, à un moment donné de la croissance, mais s'opposent encore entre elles par les variations que présentent ces trois bases au cours du développement des feuilles.

2. Phosphore et soufre. — Le soufre faisant partie intégrante de toute matière protéique et le phosphore entrant dans la constitution de bien des substances organiques sont, l'un comme l'autre, non seulement nécessaires au développement général de la plante, mais encore indispensables pour que s'élabore le pigment chlorophyllien (1). C'est dire l'étroite connexion que présentent ces deux éléments avec les phénomènes vitaux, et l'on comprend dès lors l'importance que les physiologistes attachent aux dosages du phosphore et du soufre. Ces dosages, on a coutume de les faire à partir des cendres, résidu de la calcination au moufle.

A. TECHNIQUE. — a. *Dosage du soufre.* — Le soufre ne se trouve guère dans les cendres végétales qu'à l'état de sulfates : sulfates de potassium, de calcium, de magnésium. Parmi ceux-ci, le sulfate de calcium seul est relativement peu soluble dans l'eau (environ 2 grammes par litre). Cependant, comme la richesse des feuilles en sulfates est d'ordinaire assez faible,

(1) Cf. P. VIALA, *Les maladies de la vigne*, Paris, 1893. — GASTINE et DEGRULLY, *C. R. Ac. Sc.*, t. CXX, 1895, p. 1231. — MAZÉ, *C. R. Ac. Sc.*, t. CLIII, 1911, p. 902 ; t. CLV, 1912, p. 435. — LEVIS, *Des cultures artificielles et de l'influence du soufre en physiologie végétale*, Lille, 1925.

il est permis de penser que, pour un poids de cendres égal à 200 ou 300 milligrammes, 200 centimètres cubes d'eau sont largement suffisants pour mettre en solution la totalité des sulfates.

Mode opératoire. — Après élimination des silicates, le résidu des cendres est repris par l'eau légèrement acidulée au moyen d'acide chlorhydrique. On filtre, et le filtrat, porté à l'ébullition, est rapidement additionné d'une solution bouillante de chlorure de baryum. Le sulfate de baryum précipite, et il précipite seul, car le phosphate de baryum, qui a pu se former par double décomposition entre le chlorure de baryum et les phosphates alcalins présents dans la liqueur, reste en solution grâce à l'acide chlorhydrique. On laisse alors déposer quelques minutes et on filtre. Le précipité rassemblé sur le filtre est soigneusement lavé à l'eau bouillante, séché à l'étuve et calciné au moufle. Après refroidissement, on pèse, et le poids du précipité permet de calculer la teneur de la prise d'essai en soufre.

b. *Dosage du phosphore.* — Pour doser le phosphore des cendres, nous avons appliqué les deux méthodes classiques, consistant à précipiter l'acide phosphorique soit sous forme de phosphomolybdate d'ammonium, soit sous forme de phosphate ammoniaco-magnésien. Mais la complexité même des cendres végétales oblige à certaines précautions.

1. *Précipitation à l'état de phosphomolybdate d'ammonium.* — Les silicates, précipitant par le molybdate en même temps que les phosphates, il est nécessaire de les éliminer. Mais, comme les chlorures pourraient gêner ultérieurement la formation du phosphomolybdate, il convient ici de transformer les silicates en silice anhydre par action de l'acide nitrique. Une fois cette transformation faite, il suffit de reprendre la masse par l'eau acidulée, puis de filtrer pour avoir une liqueur limpide exempte de silicates et contenant tout l'acide phosphorique des phosphates. Celui-ci est alors précipité par le nitromolybdate en présence de nitrate d'ammonium.

Le précipité de phosphomolybdate n'ayant pas toujours une composition chimique très fixe, il ne convient pas de le peser après dessiccation ; mais, après l'avoir remis en solution

par l'eau ammoniacale, on reprécipite l'acide phosphorique, séparé maintenant du fer et du calcium, sous forme de phosphate ammoniaco-magnésien, à l'aide de la mixture magnésienne (1) en présence d'un excès d'ammoniaque.

β. *Précipitation directe à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien.* — Les silicates, le fer et le calcium qui accompagnent toujours les phosphates dans les cendres sont ici autant de causes d'erreur contre lesquelles il faut se prémunir.

On commence donc par éliminer les silicates : pour cela on les transforme au moyen d'acide chlorhydrique en silice anhydre insoluble. Après filtration, la liqueur ne contient plus, comme éléments susceptibles de fausser les résultats, que le fer et le calcium.

Deux procédés peuvent être alors employés :

Ou bien l'on précipite les phosphates par la mixture citro-magnésienne (2) et l'ammoniaque, de façon à maintenir en solution le fer et le calcium.

Ou bien, après élimination du calcium par l'acide oxalique à chaud en milieu acétique, on précipite l'acide phosphorique par la mixture magnésienne et l'ammoniaque.

Dans les deux cas, le précipité cristallin de phosphate ammoniaco-magnésien recueilli sur filtre et lavé à l'eau ammoniacale est calciné au moufle après dessiccation à l'étuve et pesé.

Ces différentes méthodes employées pour le dosage des phosphates nous ont donné des résultats parfaitement concordants ; voici, à titre d'exemple, les chiffres obtenus avec les feuilles vertes du Marronnier.

(1) Mixture magnésienne :

Chlorure de magnésie cristallisé	55 grammes.
Chlorure d'ammonium	105 —
Eau	Q. S. p. 1 litre.
HCl	Qq. gouttes.

(2) Mixture citro-magnésienne :

Acide citrique	50 grammes.
Carbonate de magnésie	5 —
Magnésie caustique	2 gr. 5
Eau	75 centimètres cubes.

Quand tout est dissous, on ajoute :

NH ³	75 centimètres cubes.
Eau	Q. S. p. 390 —

Tableau comparatif des résultats obtenus par l'application de ces méthodes aux feuilles du Marronnier.

P²O⁵ p. 100 DES CENDRES.

	Méthode au molybdate.	Méthode au phosphate ammoniac-magnésien	
		après élimination du Ca.	en maintenant en solution Ca et Fe.
17 avril.....	22,939	23,080	23,168
27 —	22,089	21,320	22,103
22 mai	14,981	15,000	15,375
19 juin.....	10,346	9,873	11,390

B. RÉSULTATS OBTENUS. — 1^o Par leur richesse en soufre, les feuilles blanches, aussi bien celles de l'Orme que du Marronnier, quelle que soit l'époque de la végétation, ne se montrent en aucune façon inférieures aux feuilles vertes. Nos chiffres indiquent même plutôt un léger excès de soufre dans les cendres de feuilles blanches.

Si l'on considère maintenant les variations de la teneur en soufre au cours du développement des feuilles, on constate une différence très nette entre les feuilles blanches de l'Orme et celles du Marronnier : alors en effet que la proportion de soufre augmente légèrement avec l'âge chez ces dernières, on la voit diminuer nettement dans les feuilles blanches de l'Orme. Notons cependant que la même différence se retrouve entre les feuilles vertes de l'Orme et celles du Marronnier.

Les chiffres suivants permettent de s'en convaincre :

SO³ p. 100 des cendres.

I. — MARRONNIER.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
17 avril.....	3,36	3,90
27 —	3,29	3,77
22 mai	3,99	4,29
19 juin	4,27	4,69

II. — ORME.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
8 mai	4,30	5,88
30 —	3,01	4,80
21 juin	2,22	4,90
28 juillet.....	1,35	3,81

2° Quant au phosphore, en proportions sensiblement égales chez les feuilles vertes et blanches au début de la végétation, nous le trouvons à la fin nettement plus abondant chez ces dernières, car, s'il diminue avec l'âge chez les deux sortes de feuilles, cette diminution se montre beaucoup moins accusée chez les feuilles albinisées.

P²O⁵ p. 100 des cendres.

I. — MARRONNIER.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
17 avril.....	23,17	24,30
27 —	22,10	22,74
22 mai	15,18	18,48
19 juin	10,39	16,85

II. — ORME.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
8 mai	16,00	16,29
30 —	10,00	10,94
21 juin	6,39	10,20
28 juillet.....	5,08	9,12

Ces chiffres, qui nous renseignent sur la richesse totale des cendres en phosphore, nous permettent déjà de saisir une différence entre feuilles vertes et feuilles blanches. Mais il est possible de pousser plus loin l'analyse et de déterminer dans ce total la part due soit aux phosphates solubles, soit aux phosphates insolubles. Il suffit, pour cela, de doser, en appliquant les techniques précédentes, d'une part le phosphore entraîné par l'eau et, d'autre part, celui qui reste après lavage des cendres. On obtient alors les chiffres suivants :

Phosphates solubles et insolubles p. 100 des cendres.

I. — MARRONNIER.

	Feuilles vertes.		Feuilles blanches.	
	P ² O ⁵ soluble.	P ² O ⁵ insoluble.	P ² O ⁵ soluble.	P ² O ⁵ insoluble.
17 avril.....	6,200	16,90	17,37	6,54
27 —	6,113	15,85	15,24	6,60
22 mai	Traces.	15,00	11,60	6,00
19 juin	—	10,10	11,45	5,20

II. — ORME.

	Feuilles vertes.		Feuilles blanches.	
	P ² O ⁵ soluble.	P ² O ⁵ insoluble.	P ² O ⁵ soluble.	P ² O ⁵ insoluble.
8 mai	3,16	12,40	3,80	11,90
30 —	Traces.	10,00	2,40	8,25
21 juin.....	—	6,15	2,20	7,80
28 juillet	—	5,10	1,40	7,70

On voit donc que les cendres de feuilles blanches se distinguent des cendres de feuilles vertes non seulement par leur richesse en phosphore total, mais encore par l'abondance des phosphates solubles qu'elles renferment. Cette abondance de phosphates solubles, qui ne peuvent être évidemment que des phosphates alcalins ou de magnésie, trouvés dans les feuilles blanches, s'accorde bien du reste avec les résultats antérieurs relatifs à la potasse.

Mais remarquons qu'il s'agit toujours ici des cendres végétales et que, par suite des modifications qui ont pu se produire durant la calcination au moufle, ces données sur la nature des phosphates trouvés dans les cendres ne renseignent pas nécessairement sur la nature des phosphates de la matière sèche.

3. **Fer.** — Étant donnée l'importance bien connue de ce métal dans les phénomènes de chlorose (1), nous ne pouvions

(1) Cf. E. GRIS, *C. R. Ac. Sc.*, 1843, 1845, 1846, 1847. — SALM-HORSTMAR, *Ann. de Chimie et de Physique*, 3^e série, t. XXXII, 1851, p. 461. — A. GRIS, *Ann. des Sc. nat., Botanique*, 4^e série, t. VII, 1857, p. 179. — PONS, *La chlorose et son traitement*, 1891. — GRIFFON, *Annales des Sc. nat., Botanique*, 8^e série, t. X, 1899, p. 1. — J.-M. GUILLON, *Revue de viticulture*, t. XIX, 1903, p. 469.

omettre ici les dosages du fer. Ces dosages furent faits par la méthode colorimétrique, suivant la technique exposée par L. Maquenne (1).

Mode opératoire. — Partant toujours d'un même poids de cendres, on précipite tout d'abord le fer à l'état de phosphate. Le précipité recueilli est ensuite mis en solution dans l'acide chlorhydrique. La liqueur ferrique ainsi obtenue, amenée à un volume donné, est alors versée sur quelques gouttes de ferrocyanure de potassium. Comme la coloration bleue qui se forme est plus ou moins intense suivant la richesse de la solution en sel ferrique, il est aisé, en comparant les teintes, d'apprécier la richesse en fer des différentes prises d'essai.

L'expérience nous a montré qu'entre feuilles vertes et feuilles blanches il n'existe pas de différence appréciable sous le rapport de la teneur des cendres en fer.

La conclusion principale qui se dégage de cette étude, c'est que les cendres des feuilles blanches se caractérisent surtout par l'abondance des sels de potasse; celles des feuilles vertes, par la prédominance des sels de chaux. Les dosages de l'alcalinité soluble et insoluble, les dosages du potassium et du calcium, ainsi que les dosages des phosphates entraînés ou non par l'eau, parfaitement concordants entre eux, mettent ce point hors de doute.

De plus, si l'on considère, au cours de la végétation, les variations présentées par l'ensemble des bases et des acides minéraux, on constate que, dans les cendres de feuilles vertes aussi bien que dans celles des feuilles blanches, les acides sulfurique et phosphorique diminuent régulièrement, alors que la totalité des bases augmente, devenant de plus en plus disproportionnée avec la richesse en phosphore et en soufre. Cette constatation permet de conclure qu'il y a, chez les deux sortes de feuilles, à mesure que la végétation avance, augmentation des sels organiques, augmentation plus accusée chez les feuilles

— MAZÉ, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1904, p. 741. ; *C. R. Ac. Sc.*, t. CLIII, 1911, p. 902 ; t. CLV, 1912, p. 435 ; t. CLVII, 1913, p. 495. — GILE et CARRERO, *Journ. agr. Research.*, t. III, 1914, p. 205.

(1) L. MAQUENNE, *Bulletin de la Société chimique*, t. XXIX, 1921, p. 585.

vertes, puisque chez elles la disproportion entre bases et acides minéraux s'accroît davantage avec le temps. Et comme, parmi ces bases, la chaux seule s'accumule chez les feuilles vertes, il faut en conclure que ce sont chez elles les sels organiques de chaux qui augmentent; alors que, dans les feuilles jaunes, où la potasse s'accumule au détriment de la chaux, ce sont au contraire les sels organiques de potasse qui l'emportent.

On voit donc que ces déductions, uniquement appuyées sur l'analyse élémentaire des cendres, sont en parfait accord avec les conclusions du chapitre précédent, tirées des mesures d'alcalinité.

II. — SOUFRE ET PHOSPHORE TOTAUX.

Par la proportion des divers éléments qui entrent dans la constitution de leurs cendres, les feuilles blanches diffèrent donc profondément des feuilles vertes. A ne considérer que le phosphore et le soufre, la différence, comme nous l'avons vu, faible à l'ouverture du bourgeon, s'accroît avec le temps pour devenir très nette en fin de végétation, époque à laquelle phosphore et soufre sont plus abondants dans les cendres de feuilles blanches que dans celles des feuilles vertes.

Mais il importe de remarquer que l'analyse des cendres végétales est non seulement incapable de nous renseigner sur la nature des combinaisons sulfurées et phosphorées de la plante vivante, mais incapable encore de nous faire connaître exactement la richesse des feuilles en phosphore et en soufre, puisqu'une partie au moins de ces deux éléments, se trouvant dans l'organe sec à l'état de composés organiques, a pu se perdre au cours de la calcination (1).

Il est donc nécessaire, si l'on veut comparer strictement la composition chimique des feuilles vertes et blanches, de ne pas se contenter ici de l'analyse des cendres, mais de déterminer, à partir de la matière sèche, la totalité du phosphore

(1) BERTHELOT, *C. R. Ac. Sc.*, t. CXXVIII, 1899, p. 17.

et du soufre, et même, si possible, d'évaluer dans quelle proportion ces deux éléments existent soit à l'état organique, soit à l'état minéral.

1. Phosphore et soufre totaux. — Lorsqu'on veut doser la totalité du phosphore et du soufre présents dans la matière sèche, toute la difficulté consiste à faire passer, sans aucune perte, le phosphore et le soufre organiques sous la forme minérale.

Plusieurs méthodes dans ce but ont été proposées (1). Le procédé auquel nous nous sommes arrêtés, basé sur l'emploi du nitrate de potasse comme oxydant, n'est autre que le procédé classique, préconisé jadis par Liebig. Toutefois, dans son application, nous avons emprunté à Levis (2) certains détails de la technique.

Mode opératoire. — La matière sèche des feuilles, placée dans une capsule de porcelaine, est additionnée d'une solution saturée de carbonate de soude et de nitrate de potasse. Au bout de vingt-quatre heures, lorsque la solution a pénétré les tissus, on ajoute un fragment de potasse et 3 ou 4 grammes du mélange oxydant (carbonate de soude et nitrate de potasse). On chauffe ensuite très faiblement la capsule; dans ces conditions, la déflagration, au lieu d'être brutale, commence doucement en un point et se propage lentement, sans aucune projection, au reste de la masse. On peut, alors sans crainte, augmenter la flamme et chauffer jusqu'à décoloration totale. Lorsque l'ensemble est devenu parfaitement blanc, on peut considérer la totalité du phosphore et du soufre organique comme passée à l'état minéral.

Après refroidissement, on neutralise l'excès de potasse par l'acide chlorhydrique, puis on ajoute 20 centimètres cubes du même acide pur et 20 centimètres cubes d'eau. On évapore doucement jusqu'à sécherie complète pour insolubiliser la silice, et on reprend par l'eau légèrement acidulée. La liqueur filtrée se trouve alors prête pour le dosage du phosphore et du soufre.

(1) WEYL, *Les méthodes de la chimie organique*, t. I, p. 64.

(2) LEVIS, *Des cultures artificielles et de l'influence du soufre en physiologie végétale*, Lille, 1925, p. 70.

Le dosage du soufre se faisait par précipitation au moyen du chlorure de baryum ; celui du phosphore, par précipitation à l'aide de la mixture citro-magnésienne en présence d'ammoniaque, suivant les techniques exposées plus haut.

RÉSULTATS OBTENUS. — La matière sèche des feuilles blanches, qu'il s'agisse du Marronnier ou de l'Orme, s'est toujours montrée plus riche en soufre que la matière sèche des feuilles vertes. De plus, si l'on voit, au cours de la végétation, la proportion de soufre entrant dans la constitution d'un même poids de matière sèche diminuer sensiblement chez les feuilles vertes, on peut constater qu'elle varie à peine chez les feuilles blanches.

Quant au phosphore, il se conduit comme le soufre : plus abondant, dès l'ouverture du bourgeon, chez les feuilles blanches, il diminue au cours de la végétation beaucoup moins vite chez elles que chez les feuilles à chlorophylle.

Les chiffres suivants, obtenus à partir de la matière sèche, donnent la richesse en phosphore et en soufre pour 100 grammes du poids sec.

Phosphore et soufre totaux.

I. — SOUFRE TOTAL P. 100 DU POIDS SEC EXPRIMÉ EN SO^3 .

I. — *Marronnier*.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches
17 avril.....	0,831	0,890
27 —	0,772	0,841
22 mai	0,647	0,822
19 juin ...	0,605	0,781

II. — *Orme*.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
8 mai	0,740	0,870
30 —	0,624	0,840
21 juin.....	0,469	0,795
28 juillet.....	0,400	0,709

II. — PHOSPHORE TOTAL P. 100 DU POIDS SEC EXPRIMÉ EN P^2O^5 .

I. — Marronnier.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
17 avril.....	1,953	2,425
27 —	1,742	2,310
22 mai	1,168	2,122
19 juin	1,057	2,075

II. — Orme.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
8 mai	1,470	1,984
30 —	0,955	1,783
21 juin	0,640	1,537
28 juillet.....	0,500	1,409

Si l'on rapproche les résultats ainsi obtenus des chiffres que nous avons précédemment trouvés par l'analyse des cendres, il est intéressant de constater qu'il existe dans la matière sèche des feuilles plus de soufre et de phosphore qu'on n'en retrouve dans les cendres, ce qui prouve, par conséquent, qu'il y a pendant la calcination au moufle une perte partielle de ces deux éléments, perte beaucoup plus sensible pour le soufre que pour le phosphore, comme l'avait déjà signalé Berthelot (1).

Le tableau ci-dessous, qui donne pour 100 grammes de matière sèche les teneurs en soufre et en phosphore, calculées d'après les chiffres trouvés par l'analyse des cendres, permet de s'en convaincre.

Phosphore et soufre calculés d'après les chiffres trouvés par l'analyse des cendres.

I. — SOUFRE TOTAL P. 100 DU POIDS SEC EXPRIMÉ EN SO^2 .

I. — Marronnier.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
17 avril.....	0,258	0,369
27 —	0,218	0,378
22 mai	0,271	0,478
19 juin	0,286	0,570

(1) BERTHELOT, *C. R. Ac. Sc.*, t. CXXVIII, 1899, p. 17.

II. — Orme.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
8 mai	0,353	0,678
30 —	0,260	0,707
24 juin	0,166	0,693
28 juillet.....	0,108	0,571

II. — PHOSPHORE TOTAL P. 100 DU POIDS SEC EN P^2O^5 .

I. — Marronnier.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
17 avril.....	1,779	2,303
27 —	1,467	2,283
22 mai	1,033	2,062
19 juin	0,698	2,050

II. — Orme.

	Feuilles vertes.	Feuilles blanches.
8 mai	1,313	1,881
30 —	0,865	1,612
24 juin	0,479	1,443
28 juillet.....	0,406	1,368

2. **Phosphore et soufre organiques et minéraux.** — Ayant déterminé la totalité du phosphore et du soufre présents dans la matière sèche des feuilles, il nous reste à voir dans quelle proportion ces deux éléments sont inclus dans des combinaisons organiques et dans quelle proportion ils se trouvent sous forme minérale.

Il faut pour cela séparer tout d'abord les composés organiques où figurent le phosphore et le soufre des sels minéraux : phosphates et sulfates. Cette séparation (1) fut faite en traitant la matière sèche des feuilles par l'eau acétique bouillante qui entraîne précisément les phosphates et sulfates de potasse et de chaux, sans toucher à l'ensemble des combinai-

(1) Cette méthode de séparation n'est pas absolument rigoureuse, puisque, d'une part, le phosphate de fer est insoluble dans l'acide acétique et que, d'autre part, certains complexes organiques phosphorés ou sulfurés sont peut-être solubles dans ces conditions. Toutefois, ces causes d'erreur nous ont paru assez faibles pour être négligées ici.

sons organiques : matières protéiques, nucléoprotéides, nucléines, phosphatides, lécithines, glycoprotéides, etc., où figurent le phosphore et le soufre.

Mode opératoire. — Les feuilles sèches furent épuisées par l'eau acétique bouillante. Le filtrat servit au dosage du phosphore et du soufre minéraux, le résidu d'épuisement au dosage du phosphore et au soufre organiques.

1. *Dosage du phosphore et du soufre minéraux.* — Les liqueurs d'épuisement, neutralisées par la soude, sont évaporées jusqu'à siccité et le résidu calciné au moufle pour détruire toute trace de matières organiques. On reprend alors par l'eau chlorhydrique, on filtre et sur la liqueur limpide on dose le soufre et le phosphore par les méthodes exposées plus haut.

2. *Dosage du phosphore et du soufre organiques.* — La matière sèche des feuilles, débarrassée des phosphates et sulfates par l'eau acétique, est traitée par le mélange oxydant exactement comme pour le dosage du phosphore et du soufre de la matière sèche.

RÉSULTATS OBTENUS. — 1. *Le soufre minéral s'est toujours montré nettement plus abondant dans la matière sèche des feuilles blanches*, aussi bien chez l'Orme que chez le Marronnier. Bien plus, au cours de la végétation, la teneur en soufre minéral, qui demeure chez les feuilles vertes sensiblement constante (Marronnier) ou même diminue (Orme), ne cesse au contraire d'augmenter dans les feuilles blanches.

Quant au soufre organique, un peu moins abondant dans les feuilles albinisées que dans les feuilles à chlorophylle, on le voit diminuer régulièrement de part et d'autre à mesure que la végétation avance.

Soufre organique et minéral p. 100 de matière sèche.

I. — MARRONNIER.

	Feuilles vertes.		Feuilles blanches.	
	S minéral.	S organique.	S minéral.	S organique.
17 avril.....	0,256	0,585	0,370	0,520
27 —	0,250	0,542	0,384	0,457
22 mai	0,269	0,387	0,468	0,354
19 juin.....	0,275	0,311	0,567	0,214

II. — ORME.

	Feuilles vertes.		Feuilles blanches	
	S minéral.	S organique.	S minéral.	S organique.
8 mai	0,360	0,400	0,500	0,305
30 —	0,259	0,360	0,560	0,285
21 juin.....	0,172	0,324	0,592	0,240
28 juillet	0,102	0,295	0,576	0,200

Ce léger déficit des feuilles blanches en soufre organique cadre bien avec les données antérieures relatives à l'azote protéique : il semble normal, en effet, que là où se trouve moins de protéines, là aussi doive se trouver moins de soufre organique.

β. Comme le soufre, le *phosphore minéral est toujours plus abondant dans la matière sèche des feuilles blanches que dans celle des feuilles vertes*, mais ses variations au cours de la végétation ne sont pas exactement parallèles à celles du soufre. Alors, en effet, que la teneur des feuilles vertes en phosphore minéral diminue très nettement aussi bien chez l'Orme que chez le Marronnier, celle des feuilles blanches reste sensiblement constante.

Comme le soufre organique, le phosphore organique diminue régulièrement chez les feuilles vertes et chez les feuilles blanches, à mesure que la végétation avance, mais il est à remarquer qu'à l'inverse du soufre le phosphore organique se montre légèrement plus abondant dans les feuilles albinisées.

Phosphore organique et minéral p. 100 de matière sèche.

I. — MARRONNIER.

	Feuilles vertes.		Feuilles blanches.	
	P minéral.	P organique.	P minéral.	P organique.
17 avril.....	1,369	0,584	1,738	0,625
27 —	1,237	0,565	1,658	0,602
22 mai	0,722	0,446	1,660	0,470
19 juin.....	0,611	0,376	1,667	0,395

II. — ORME.

	Feuilles vertes.		Feuilles blanches.	
	P minéral.	P organique.	P minéral.	P organique.
8 mai	0,937	0,562	1,337	0,622
30 —	0,578	0,410	1,301	0,452
21 juin.....	0,390	0,254	1,162	0,360
28 juillet	0,282	0,200	1,103	0,302

Cet excédent de phosphore organique, trouvé chez les feuilles blanches, est, à coup sûr, inattendu, car rien ne faisait prévoir que là où l'on rencontre moins de soufre organique et moins d'azote protéique on trouverait plus de phosphore organique. Que signifie cet excès de phosphore chez les feuilles albinisées? Indique-t-il, chez elles, une surabondance de nucléoprotéides ou simplement un excédent de graisses phosphorées? La question reste à résoudre.

Quoi qu'il en soit sur ce point de détail, l'opposition entre feuilles vertes et feuilles blanches demeure très nette.

C'est surtout par les proportions de phosphore et de soufre minéral, entrant dans la constitution de la matière sèche, que diffèrent les deux sortes de feuilles : les phosphates et les sulfates étant toujours plus abondants dans les feuilles albinisées que dans les feuilles à chlorophylle.

Au point de vue de la teneur en phosphore et en soufre organique, l'analyse élémentaire ne révèle, il est vrai, entre feuilles blanches et feuilles vertes, que de légères différences, mais ces différences, si légères soient-elles, ont leur importance, car, si l'on se rappelle la part infime que représente le phosphore et le soufre dans la molécule des composés organiques, on se rend compte aisément alors que la plus minime différence dans le pourcentage du phosphore et du soufre suppose une différence sensible dans la teneur en matières organiques correspondantes.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Quelle que soit l'époque de la végétation, les feuilles blanches des espèces panachées diffèrent profondément, par leur chimisme, des feuilles vertes prélevées sur la même plante.

Ces différences se révèlent clairement, que l'analyse porte sur la matière fraîche, sur la matière sèche ou sur les cendres.

1. Matière fraîche. — A l'état frais, les feuilles blanches se montrent toujours plus riches en eau, et souvent même plus riches en sels minéraux que les feuilles vertes. Corrélativement, elles sont toujours plus pauvres en substances organiques.

Le déficit des feuilles blanches en composés organiques résulte tout à la fois de leur pauvreté en hydrates de carbone, en matières protéiques et en sels d'acides organiques. Bien qu'il existe, en effet, plus de composés azotés solubles et sensiblement autant de glucosides dans les feuilles albinisées que dans les feuilles vertes, on trouve toujours chez les premières beaucoup moins de matières protéiques et de matières pectiques, moins d'acides organiques libres ou salifiés, moins de réducteur et de saccharose et jamais trace d'amidon.

Au cours de la végétation, aussi bien chez les feuilles privées de chlorophylle que chez les feuilles normales, les proportions respectives de la matière organique et des cendres augmentent régulièrement, mais de façon bien différente. Dans les feuilles blanches, le taux des cendres croît plus vite que celui des composés organiques, alors que, dans les feuilles vertes, l'accumulation des matières minérales et des matières organiques suit une marche sensiblement parallèle. Il en résulte que le rapport pondéral des cendres à la matière organique, qui varie à peine ou même diminue chez les feuilles vertes, augmente sans désemperer dans les feuilles blanches.

2. **Matière sèche.** — Si l'on considère la matière sèche des feuilles jaunes, on voit qu'elle se distingue de celle des feuilles vertes non seulement par sa pauvreté en substances protéiques mais encore par sa teneur élevée en composés azotés solubles et en sels minéraux.

La richesse en sels minéraux est due, en partie du moins, à l'abondance des phosphates et des sulfates.

Il y a, au cours de la végétation, chez les deux sortes de feuilles, diminution de la teneur en phosphore et en soufre organiques, diminution de la teneur en azote soluble et insoluble. Mais il est intéressant de remarquer que l'azote soluble diminue beaucoup moins rapidement dans la matière sèche des feuilles blanches; aussi voit-on chez elles le rapport de l'azote soluble à l'azote total augmenter régulièrement, alors qu'il diminue chez les feuilles vertes.

Les sels minéraux demeurent en quantité sensiblement constante dans la matière sèche des feuilles vertes; ils s'accumulent, au contraire, dans celle des feuilles jaunes à mesure que la végétation avance.

3. **Cendres.** — A l'ouverture des bourgeons, la composition des cendres diffère peu d'une catégorie de feuilles à l'autre. A cette époque, les proportions de soufre, de phosphore et de magnésie sont à peu près égales de part et d'autre; toutefois la potasse prédomine déjà dans les feuilles jaunes, tandis que la chaux est plus abondante chez les vertes. Mais, avec l'âge, les différences s'accroissent, et l'on trouve qu'en fin de végétation le phosphore et le soufre sont en excès chez les feuilles blanches. Quant à la chaux, qui demeure stationnaire dans les feuilles albinisées, nous la voyons s'accumuler dans les feuilles vertes, la potasse suivant la marche inverse.

Si l'on calcule, à l'aide des données fournies par l'analyse des cendres, la teneur de la matière sèche en potasse et en chaux, il est aisé de constater que la matière sèche des feuilles jaunes, plus riche en potasse que celle des feuilles vertes, est, par contre, plus pauvre en chaux. Bien plus, on remarque que, si la chaux s'accumule chez les feuilles vertes, la potasse, elle, augmente sans cesse chez les feuilles blanches.

L'analyse chimique nous amène donc à cette conclusion que la matière sèche des feuilles albinisées s'enrichit constamment en sels alcalins solubles, organiques ou minéraux ; celle des feuilles vertes, au contraire, en sels de chaux insolubles.

Les mesures de conductibilité électrique que nous avons faites à partir des extraits aqueux de matière sèche ont pleinement confirmé ces résultats : la conductibilité électrique, en effet, plus grande, dès l'origine, chez les feuilles jaunes que chez les feuilles vertes, augmente régulièrement avec l'âge chez les premières, tandis qu'elle diminue chez les secondes.

La haute teneur des feuilles albinisées en sels solubles, organiques ou minéraux, jointe à l'excès des composés solubles azotés, permet de comprendre pourquoi la pression osmotique est plus élevée dans les feuilles jaunes que dans les feuilles vertes, bien que l'eau soit plus abondante dans les premières que dans les secondes.

En résumé, richesse en eau et en cendres, dans lesquelles abondent le phosphore et la potasse, richesse en sels solubles, organiques et minéraux, richesse en composés solubles azotés, pauvreté par contre en hydrates de carbone, en matières protéiques, en acides organiques et en chaux, telles sont les caractéristiques des feuilles albinisées.

L'ensemble de ces caractères chimiques se retrouve presque intégralement chez les Phanérogames hétérotrophes privées de chlorophylle. Celles-ci sont, en effet, d'après les analyses de Grandeau, Church et Zellner, particulièrement riches en eau et en cendres, riches en potasse et en composés solubles azotés, pauvres en chaux. Zellner estime même que l'abondance des sels de potasse et des composés azotés solubles présents dans les plantes parasites, suffit à entretenir l'équilibre de pression osmotique entre l'hôte et le parasite, quelle que soit la richesse en eau de ce dernier.

Dans les autres types de chlorose : feuilles étiolées, feuilles jaunes d'automne, feuilles atteintes de chlorose malade, on découvre aisément l'un ou l'autre des caractères chimiques propres aux feuilles albinisées et aux Phanérogames hétérotrophes, mais nulle part on ne retrouve l'ensemble de ces

caractères. La disparition du pigment vert n'entraîne donc pas nécessairement, dans tous les cas, les mêmes modifications chimiques ; à cet égard, autre chose est la chlorose maladive, le jaunissement automnal, l'étiollement et l'albinisme.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ANDRÉ (G.). — Étude de quelques transformations qui se produisent chez les plantes étiolées à l'obscurité (*C. R. Ac. Sc.*, t. CXXX, 1900, p. 1198).
- Sur la migration des matières azotées et des matières ternaires dans les plantes annuelles (*C. R. Ac. Sc.*, t. CXXXII, 1901, p. 1058).
- Sur l'élaboration de la matière azotée dans les feuilles des plantes vivaces (*C. R. Ac. Sc.*, t. CXLVIII, 1909, p. 1685).
- Sur l'élaboration des matières phosphorées et des substances salines dans les feuilles des plantes vivaces (*C. R. Ac. Sc.*, t. CXLIX, 1909, p. 45).
- ASBOTH. — *Chemical Centralblatt*, 1886, p. 101.
- ASTRUC. — Recherches sur l'acidité végétale (*Annales des Sciences naturelles, Botanique*, 8^e série, t. XVII, 1903, p. 1).
- BAUR. — Zur Etiologie der infektiösen Panachierung (*Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft*, t. XXII, 1904, p. 453).
- Weitere Mitteilungen über die infektiöse Chlorose der Malvaceen und über einige analoge Erscheinungen bei Ligustrum und Laburnum (*ibid.*, t. XXIV, 1906, p. 416).
- Ueber infektiöse Chlorosen bei Ligustrum, Laburnum, Fraxinus, Sorbus und Ptelea (*ibid.*, t. XXV, 1907, p. 410).
- BÉHAL. — *Traité de Chimie organique*, 1902.
- BERNARD (A.). — Le fer en sol calcaire (*Journal de l'Agriculture*, 1891).
- Chlorose et sulfate de fer (*Progrès agricole*, 1892).
- BERTHELOT. — Sur le dosage du phosphore et du soufre (*C. R. Ac. Sc.*, t. CXXVIII, 1899, p. 17).
- BERTRAND (G.) et M^{lle} DJORITCH (Y.). — Sur un nouveau chromogène cristallisé, l'esculétol, retiré du Marronnier d'Inde (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXVIII, 1924, p. 1233).
- BONNIER (G.). — Recherches physiologiques sur les plantes parasites (*Bulletin scientifique de la France et de la Belgique*, t. XXVIII, 1893).
- BOSSHARD. — Beiträge zur Kenntniss der Samen der Roskastanie und der in diesen Samen enthaltenen Saponin-Substanzen, 1916.
- BRIGGS, JENSEN and Mc. LANE. — Mottle-leaf of citrus trees in relation to soil conditions (*Journal of agricultural Research*, t. VI, 1916, p. 721).
- BROWN et MORRIS. — *Journal of chemical Society*, 1893, p. 604.
- CANDOLLE (DE). — *Physiologie végétale*.
- CHURCH. — A chemical Study of vegetable Albinism (*Journal of the chemical Society of London*, t. XXXV, 1879, p. 33 ; t. XXXVII, 1880, p. 1 ; t. XLIX, 1886, p. 839).

- COLIN (H.). — Utilisation du glucose et du lévulose par les plantes supérieures (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXVIII, 1919, p. 697).
- et GRANDSIRE (A.). — Feuilles vertes et feuilles chlorotiques, les matières ternaires (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXIX, 1924, p. 288).
- Minéralisation des feuilles vertes et des feuilles chlorotiques (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXXI, 1925, p. 133).
- et LIÉVIN (O.). — Dosage des sucres aldéhydiques par l'iode en milieu alcalin (*Bulletin de la Société chimique de France*, t. XXIV, 1918, p. 403).
- COMBES (R.). — Variations subies par les composés hydrocarbonés dans les feuilles à l'époque de la chute de ces organes (*Association française pour l'avancement des sciences*, Lille, 1909, p. 525).
- Les opinions actuelles sur les phénomènes physiologiques qui accompagnent la chute des feuilles (*Rev. gén. Bot.*, t. XXIII, 1911, p. 129).
- La lumière exerce-t-elle une action directe sur la décomposition de la chlorophylle des feuilles en automne? (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXXI, 1925, p. 129).
- CORENWINDER. — *Recherches sur la composition chimique et les fonctions des feuilles des végétaux*, Paris, 1878.
- *Études sur les feuilles des arbres pendant le cours de leur végétation*, Lille, 1874.
- CZAPECK. — *Biochimie der Pflanzen*, t. III.
- DELACROIX. — *Maladies non parasitaires des plantes cultivées*, Paris, 1916.
- DENIGÈS. — *Précis de chimie analytique*, Paris, 1920.
- DULK. — Untersuchung der Buchenblätter in ihren verschiedenen Wachstumszeiten (*Landwirth Versuchs-Stationen*, t. XVIII, 1875, p. 188).
- FLAHAULT. — Sur la présence de la matière verte dans les organes actuellement soustraits à l'influence de la lumière (*Bulletin de la Soc. Bot. de France*, t. XXVI, 1879).
- FLICHE et GRANDEAU. — De l'influence de la composition chimique du sol sur la végétation du Pin maritime (*Annales de Chimie et de Physique*, 4^e série, t. XXIX, 1873, p. 383).
- — De l'influence de la composition chimique du sol sur la végétation du Châtaignier (*ibid.*, 5^e série, t. II, 1874, p. 354).
- — Recherches chimiques sur la composition des feuilles, modifications résultant de l'âge et de l'espèce (*ibid.*, 5^e série, t. VIII, 1876, p. 486).
- FORSTER. — *Zeitschr. f. anal. Chem.*, t. XXVII, 1889, p. 422.
- FRÉMY. — Note sur un acide retiré de la saponine (*Annales de Chimie et de Physique*, 2^e série, t. LVIII, 1835, p. 101).
- FRUWIRTH et ZIELSTORFF. — Die herbstliche Rückwanderung von Stoffen bei der Hopfenpflanze (*Landwirth Versuchs-Stationen*, t. LV, 1901, p. 9).
- GARREAU. — Recherches sur la distribution des matières minérales fixes dans les divers organes des plantes (*Annales des Sciences naturelles, Botanique*, 4^e série, t. XIII, 1860, p. 145).
- GASTINE et DÉGRULLY. — Sur la chlorose des Vignes américaines et son traitement par l'acide sulfurique (*C. R. Ac. Sc.*, t. CXX, 1895, p. 1231).
- GILE et CARRERO. — Assimilation of colloidal iron by Rice (*Journal agricultural Research*, t. III, 1914, p. 205).

- GODLEWSKI. — Zur Kenntniss der Ursachen der Formänderung etiolirten Pflanzen (*Botanische Zeitung*, 1879, p. 81).
- GORIS. — Localisation et rôle des alcaloides et des glucosides chez les Végétaux, Paris, 1914.
- GRANDEAU et BOUTON. — Étude chimique du Gui (*C. R. Ac. Sc.*, t. LXXXIV, 1877, p. 129 et 500).
- GRIFFON. — L'assimilation chlorophyllienne et la coloration des plantes (*Annales des Sciences naturelles, Botanique*, 8^e série, t. X, 1899, p. 1).
- GRIS (A.). — Recherches microscopiques sur la chlorophylle (*Annales des Sciences naturelles, Botanique*, 4^e série, t. VII, 1857, p. 179).
- GRIS (E.). — *C. R. Ac. Sc.*, t. XVII, 1843, p. 679; t. XXI, 1845, p. 1346; t. XXIII, 1846, p. 53; t. XXV, 1847, p. 276.
- GUIGNARD. — Quelques faits relatifs à l'histoire de l'émulsine; existence générale de ce ferment chez les Orchidées (*C. R. Ac. Sc.*, t. CXXI, 1905, p. 637).
- Sur l'existence, dans certains Groseilliers, d'un composé fournissant de l'acide cyanhydrique (*C. R. Ac. Sc.*, t. CXXI, 1905, p. 448).
- Nouvelles observations sur la formation et les variations quantitatives du principe cyanhydrique du Sureau noir (*Bull. des Sc. pharmacologiques*, t. XIII, 1905, p. 65).
- Sur l'existence d'un composé cyanique chez les Passiflorées (*ibid.*, t. XIII, 1906, p. 603).
- GUILLON (J.-M.). — La reconstitution en terrains calcaires (*Revue de viticulture*, t. XIX, 1903, p. 469).
- HOUDAILLE et SÉMICHON. — La chlorose et le calcaire (*Revue de viticulture*, t. I, 1894, p. 405).
- IWANOFF. — Das Auftreten und Schwinden von Phosphorverbindungen in der Pflanze (*Jahrbucher für wiss. Bot.*, t. XXXVI, 1901, p. 355).
- JENSEN. — Composition of Citrus leaves at various stages of Mottling (*Journal of agricultural Research*, t. IX, 1917, p. 157).
- Effect of Decomposing organic Matter on the solubility of certain inorganic constituents of the soil (*ibid.*, t. IX, 1917, p. 253).
- JODIDI, MOULTON and MARKLEY. — The mosaic disease of spinach as characterized by its nitrogen constituents (*ibid.*).
- A mosaic disease of Cabbage as revealed by its nitrogen constituents (*ibid.*, 1883).
- JODLBAUER. — *Chem. Centralbl.*, 1886, p. 433.
- JOULIE. — Sur la chlorose de la Vigne (*Bull. de la Soc. des agriculteurs de France*, t. XXVII, 1888, p. 77).
- KARSTEN. — Die Einwirkung des Lichtes auf das Wachsthum der Pflanzen, beobachtet bei Keimung der Schminkbohnen (*Die Landwirth Versuchs-Stationen*, t. XIII, 1871, p. 176).
- KELLEY and CUMMINS. — Composition of normal and Mottled citrus leaves (*Journal of agricultural Research*, t. XX, 1920, p. 161).

- LECLERC DU SABLON. — Recherches physiologiques sur les matières de réserve des arbres (*Rev. gén. Bot.*, t. XVI, 1904, p. 341).
- LEVIS. — *Des cultures artificielles et de l'influence du soufre en physiologie végétale*, Lille, 1925.
- LINDET. — *Annales agronomiques*, t. XXVI, 1910, p. 103.
- LUTZ. — Sur l'accumulation des nitrates dans les plantes parasites et saprophytes et sur l'insuffisance de la diphénylamine sulfurique comme réactif microchimique de ces substances (*Bull. Soc. Bot. de France*, t. LV, 1908, p. 104).
- Comparaison de l'azote total et de l'azote nitrique dans les plantes parasites et saprophytes (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLIV, 1912, p. 1247).
- MACBETH. — Relation of the transformation and distribution of soil nitrogen to the nutrition of Citrus plants (*Journal of agricultural Research*, t. IX, 1917, p. 183).
- MAIWALD. — Wirkung hoher Nährstoffgaben auf den Assimilations-apparat (*Angewandte Botanik*, t. V, 1923, p. 33).
- MAQUENNE. — Sur le dosage de très petites quantités de fer (*Bull. Soc. chimique*, t. XXIX, 1921, p. 585).
- MASSON. — Les principes actifs des graines de Marronnier d'Inde (*Bull. des Sc. pharmacologiques*, t. XVIII, 1918, p. 65).
- MAZÉ. — Recherches sur l'assimilation de quelques substances ternaires par les végétaux à chlorophylle (*Ann. de l'Institut Pasteur*, 1904, p. 741).
- Recherches sur la physiologie végétale (*ibid.*, 1911).
- Sur la chlorose expérimentale du Maïs (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLIII, 1911, p. 902).
- Recherches sur la chlorose végétale provoquée par le carbonate de calcium (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLV, 1912, p. 435).
- Chlorose calcaire des plantes vertes (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLVII, 1913, p. 495).
- MER. — Des phénomènes végétatifs qui précèdent ou accompagnent le dépérissement et la chute des feuilles (*Bull. Soc. bot. de France*, t. XXIII, 1876, p. 176).
- MESTREZAT et M^{lle} JANET. — L'azote titrable par la méthode de Kjeldhal (*Bull. Soc. chim. biologique*, t. III, 1921, p. 105).
- MICHEL-DURAND. — *Variation des substances hydrocarbonées dans les feuilles*, Nemours, 1917.
- MIRANDE. — Les plantes phanérogames parasites et les nitrates (*C. R. Ac. Sc.*, t. CXLV, 1907, p. 507).
- MOHR. — Gepflückter und am Stamme getrockneter Tabak (*Landwirth Versuchs-Stationen*, t. LIX, 1904, p. 253).
- MOLLIARD (M.). — Recherches physiologiques sur les Galles (*Rev. gén. Bot.*, t. XXV, 1913, p. 355).
- Influence de certaines conditions sur la consommation comparée du glucose et du lévulose par le *Sterigmatocystis nigra* à partir du saccharose (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXVII, 1918, p. 1043).
- MORREN. — Héritéité de la panachure (*Bull. de l'Académie royale de Belgique*, 2^e série, t. XIX, 1865, p. 224 ; t. XXVIII, 1869, p. 433).

- PALLADINE (W.). — Transpiration als Ursache der Formänderung etiolirten Pflanzen (*Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft*, t. VIII, 1890, p. 364).
- Eiweissgehalt der grünen und etiolirten Blätter (*ibid.*, t. IX, 1891, p. 194).
- Ergrünen und Wachsthum der etiolirten Blätter (*ibid.*, t. IX, 1891, p. 229).
- Aschengehalt der etiolirten Blätter (*ibid.*, 10, 1892, p. 179).
- Recherches sur la respiration des feuilles vertes et des feuilles étiolées (*Rev. gén. Bot.*, t. V, 1893, p. 449).
- PANTANELLI. — Studi sull'Albinismo nel Regno vegetale (*Malpighia*, t. XVI, 1902; t. XVII, 1903, p. 39; t. XVIII, 1904, p. 97; t. XIX, 1905, p. 45).
- PONS. — *La chlorose et son traitement*, 1891.
- RAUWENHOFF. — Sur les causes des formes anormales des plantes qui croissent dans l'obscurité (*Annales de sciences naturelles, Botanique*, 6^e série, t. V, 1878, p. 267).
- REUTTER. — *Traité de matière médicale et de chimie végétale*, Paris, 1923.
- RISSMÜLLER. — Ueber die Stoffwanderung in der Pflanze (*Landwirth Versuchs-Stationen*, t. XVII, 1874, p. 17).
- ROCHLEDER et SCHWAZ. — Ueber einige Bitterstoffe (*Annalen der Chemie und Pharmacie*, t. LXXXVII, 1853, p. 186; t. LXXXVIII, 1853, p. 356).
- SACHS. — Ueber den Einfluss des Tageslichts auf Neubildung und Entfaltung verschiedener Pflanzenorgane (*Bot. Zeitung*, t. XXI, 1863, p. 19).
- Wirkung der Lichts auf die Blütenbildung unter Vermittlung der Laubblätter (*ibid.*, t. XXIII, 1865, p. 117).
- SALM-HORTSMAR. — Recherches sur la nutrition de l'Avoine (*Ann. de Chimie et de Physique*, 3^e série, t. XXXII, 1851, p. 461).
- SCHERTZ. — A chemical and physiological study of mottling of leaves (*Botanical Gazette*, t. LXXI, 1921, p. 81).
- SCHMITZ. — *Zeitschr. f. anal. Chem.*, 1906, p. 512.
- SCHULZE. — Ueber Schwefelsäurebildung in Keimpflanzen (*Landwirth Versuchs-Stationen*, t. XIX, 1876, p. 172).
- SCHULZE et UMLAUFT. — Notiz über den Asparagin-gehalt von Lupinen-Keimlingen (*Landwirth Versuchs-Stationen*, t. XVIII, 1875, p. 1).
- TEODORESCO. — Action indirecte de la lumière sur la tige et les feuilles (*Rev. gén. Bot.*, t. XI, 1899, p. 369).
- TIMPE. — *Beitrag zur Kenntniss des Punachierung*, 1900.
- TORD. — Expériences contre la chlorose des Vignes en terre de Champagne (*Progrès agricole et viticole*, 1887, p. 223).
- TREUB. — Nouvelles recherches sur le rôle de l'acide cyanhydrique dans les plantes vertes (*Ann. du Jardin botanique de Buitenzorg*, 2^e série, t. VI, 1907, p. 76).
- VIALA (P.). — *Les maladies de la Vigne*, Paris, 1893.
- WEBER. — Ueber den Einfluss farbigen Lichtes auf die Assimilation und die damit zusammenhängende Vermehrung des Aschenbestandtheile in Erbsen Keimlingen (*Landwirth Versuchs-Stationen*, t. XVIII, 1875, p. 18).

WEEVERS. — Untersuchungen über die Lokalisation und Funktion des Kaliums in der Pflanze (*Recueil des travaux botaniques néerlandais*, t. VIII, 1911, p. 289).

WEYL. — *Les méthodes de la chimie organique*.

ZELLNER. — Zur Chemie heterotrophen Phanerogamen (*Monatshefte für Chemie*, t. XXXV, 1914, p. 333 ; t. XXXVI, 1914, p. 1511 ; t. XL, 1919, p. 293).

ZIMMERMANN. — Ueber die Chromatophoren in panachirten Blättern (*Beiträge z. Morph. und Physiol. der Pflanzenzelle*, t. II, 1891, p. 81).

ZOLLER. — Untersuchung von Buchenblättern in ihren verschiedenen Wachstumszeiten (*Landwirth Versuchs-Stationen*, t. VI, 1864, p. 231).

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	221
APERÇU HISTORIQUE	222

CHAPITRE PREMIER

TENEUR EN EAU, EN MATIÈRES ORGANIQUES ET EN MATIÈRES MINÉRALES..	232
1. Richesse en eau	232
2. Matière organique et minérale	233

CHAPITRE II

LES COMPOSÉS HYDROCARBONÉS.....	238
I. <i>Feuilles de Marronnier</i>	239
1. Analyse qualitative	239
A. Feuilles vertes normales.....	239
B. Feuilles blanches.....	245
2. Analyse quantitative.....	246
A. Technique	246
B. Résultats obtenus.....	248
II. <i>Feuilles d'Orme</i>	249
1. Analyse qualitative	249
2. Analyse quantitative.....	249

CHAPITRE III

LES MATIÈRES AZOTÉES	253
1. Azote total.....	254
2. Azote insoluble et azote soluble	256
3. Azote minéral joint à l'azote des amides et des amines	258

CHAPITRE IV

ACIDES LIBRES ET ACIDES SALIFIÉS.....	261
1. Acidité libre.....	261

2. Acides salifiés.....	263
A. Alcalinité totale.....	264
B. Bases solubles et insolubles.....	264

CHAPITRE V

DES MATIÈRES MINÉRALES.....	267
I. <i>Composition des cendres</i>	267
1. Potassium, magnésium, calcium.....	267
A. Technique	268
B. Résultats obtenus.....	271
2. Phosphore et soufre	272
A. Technique	272
B. Résultats obtenus.....	275
3. Fer	277
II. <i>Soufre et phosphore tota¹</i>	279
1. Phosphore et soufre total.....	280
2. Phosphore et soufre organique et minéral.....	283
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	287
BIBLIOGRAPHIE.....	291
TABLE DES MATIÈRES	297

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

GÉOLOGIE. — Répartition géologique et origine des pétroles.

PHYSIOLOGIE. — Pigments respiratoires des Invertébrés.

Vu et approuvé :

Paris, le 7 mai 1926.

LE DOYEN DE LA FACULTÉ DES SCIENCES,

M. MOLLIARD.

Vu et permis d'imprimer :

LE RECTEUR
DE L'ACADÉMIE DE PARIS,

P. LAPIE.

7071-25. — CORBEIL. IMPR. CRÉTÉ.
